

Aus der Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt  
operative Intensivmedizin CVK/CCM  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Einfluss unterschiedlicher moderner Hydroxyethylstärke-lösungen  
auf das plasmatische Gerinnungssystem,  
das von-Willebrand-System und die mittels Thrombelastometrie  
gemessenen dynamischen Funktionsparameter der Gerinnung  
in einem *in vitro*-Hämodilutionsmodell

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Wiebke Juliane Rau

aus Berlin

Gutachter:    1. Prof. Dr. med. C. von Heymann  
                  2. Prof. Dr. med. M. Spannagl  
                  3. Prof. Dr. med. T. Volk

Datum der Promotion:    22.03.2013

---

## Inhaltsverzeichnis

Abkürzungs-, Sonderzeichen- und Vorsatzverzeichnis .....	iv
1 Einleitung .....	1
1.1 Hydroxyethylstärke (HES) .....	1
1.2 HES-induzierte Gerinnungsstörungen .....	2
1.3 HES-induzierte Koagulopathie: Einfluss der HES-Konzentration .....	5
1.4 HES-induzierte Koagulopathie: Einfluss der Trägerlösung .....	6
1.5 HES-induzierte Koagulopathie: erworbenes von-Willebrand-Syndrom Typ 1 .....	6
1.6 Diagnostik der HES-induzierten Gerinnungsstörungen .....	8
1.7 Fragestellung .....	10
2 Material und Methoden .....	11
2.1 Studiendesign .....	11
2.2 Blutgruppenbestimmung .....	15
2.3 Konventionelle Laborparameter .....	15
2.4 Thrombelastometrie .....	18
2.5 Statistische Auswertung .....	22
3 Ergebnisse .....	24
3.1 Probandencharakteristika .....	24
3.2 Ergebnisse der Dilutionskontrolle .....	25
3.3 Einfluss von HES-Konzentration, Trägerlösung bzw. Blutgruppe .....	26
3.3.1 Nicht-balancierte, iso- versus hyperonkotische HES-Lösungen .....	27
3.3.2 Elektrolyt-balancierte, iso- versus hyperonkotische HES-Lösungen .....	34
3.3.3 Isoonkotische, nicht-balancierte versus Elektrolyt-balancierte HES-Lösungen .....	41
3.3.4 Hyperonkotische, nicht-balancierte versus Elektrolyt-balancierte HES-Lösungen ..	46
3.3.5 Blutgruppenabhängige Analyse des FVIII und der vWF-Parameter .....	51
4 Diskussion .....	61
4.1 Einfluss der HES-Konzentration .....	61
4.1.1 Einfluss der HES-Konzentration auf die Laborparameter .....	61
4.1.2 Einfluss der HES-Konzentration auf die Thrombelastometrie .....	66
4.2 Einfluss der Trägerlösung der HES-Präparation .....	70
4.2.1 Einfluss der Trägerlösung der HES-Präparation auf die Laborparameter .....	70
4.2.2 Einfluss der Trägerlösung der HES-Präparation auf die Thrombelastometrie .....	76
4.3 HES-induziertes von-Willebrand-Syndrom Typ 1 .....	80
4.4 Methodenkritik .....	84
4.5 Schlussfolgerungen und Ausblick .....	86
5 Zusammenfassung .....	88
6 Literatur- und Quellenverzeichnis .....	91
Anhang .....	99

## Abkürzungs-, Sonderzeichen- und Vorsatzverzeichnis

### Abkürzungsverzeichnis

Ag	Antigen
AG	Aktiengesellschaft
Akt	Aktivität
ApS	<i>Anpartsselskab</i> , dänische Form der GmbH
aPTT	<i>activated Partial Thromboplastin Time</i> , aktivierte partielle Thromboplastinzeit
bal	Elektrolyt-balanciert
BB	Blutbild
BBM	B. Braun Melsungen AG
BE	Blutentnahme
BG	Blutgruppe
BGA	Blutgasanalyse
BMI	<i>Body Mass Index</i> , Körpermasseindex
°C	Grad Celsius, abgeleitete SI-Einheit der Temperatur
Ca <sup>2+</sup>	ionisiertes Calcium
CB	Citratblut
CBA	Collagenbindungsaktivität
CFT	<i>Clot Formation Time</i> , Gerinnselformierungszeit in der ROTEM®-Thrombelastometrie
CP	Citratplasma
CT	<i>Clotting Time</i> , Gerinnungszeit in der ROTEM®-Thrombelastometrie
Da	Dalton, die biochemische Bezeichnung der nicht SI-konformen Einheit der Molekülmasse <i>u</i>
DS	<i>Degree of Substitution</i> , Substitutionsgrad
EA	Ethikantrag
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ELISA	<i>Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay</i> , Enzym-gekoppelter Immunadsorptionstest
EK-Nr.	fortlaufende Identifikationsnummer bei der Ethik-Kommission
engl.	englisch
et al.	<i>et alii</i> , und andere
FK	Fresenius Kabi Deutschland AG
FVIII	Gerinnungsfaktor VIII, auch: <i>antihämophiles Globulin A</i>
g	Gramm, ein Tausendstel der SI-Basiseinheit der Masse: <i>kg</i>
G	Gauge, nicht SI-konforme Einheit für den Außendurchmesser von Kanülen
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
GpIb	Glykoprotein Ib, Thrombozytenoberflächenrezeptor für den von-Willebrand-Faktor
GpIIb/IIIa	Glykoprotein IIb/IIIa, Thrombozytenrezeptor für Fibrinogen und Plättchenaggregation

HES	Hydroxyethylstärke
Hkt	Hämatokrit
ILP	Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Pathobiochemie
Inc.	<i>Incorporated</i> , ein im Handelsregister eingetragenes Unternehmen
IU	<i>International Unit</i> , internationale Einheit
kg	Kilogramm, SI-Basiseinheit der Masse
KG	Körpergewicht
l	Liter, nicht SI-konforme Volumeneinheit
LI	Lyse-Index in der Thrombelastometrie
m	Meter, SI-Basiseinheit der Länge
MCF	<i>Maximum Clot Firmness</i> , maximale Gerinnselfestigkeit in der ROTEM <sup>®</sup> -Thrombelastometrie
mol	Einheitenzeichen der SI-Basiseinheit Mol der Stoffmenge
MW	<i>Molecular Weight</i> , Molekülmasse
n	Anzahl
n.a.	nicht anwendbar
nbal	nicht-balanciert
osmol	Einheit der molaren Menge gelöster, osmotisch wirksamer Teilchen
<i>p</i>	statistischer p-Wert
Plt	<i>Platelets</i> , Thrombozyten
PP	Polypropylen
PTT	<i>Partial Thromboplastin Time</i> , partielle Thromboplastinzeit
rel	relativ
RCo	Ristocetin-Cofaktor
rpm	<i>revolutions per minute</i> , Umdrehungen pro Minute
s	Sekunde(n), SI-Basiseinheit der Zeit
SI	<i>Système International d'unités</i> , Internationales Einheitensystem
TEG <sup>®</sup>	Thrombelastographie
TEM <sup>®</sup>	Thrombelastometrie
theor.	theoretisch(e)
TPZ	Thromboplastinzeit
U	<i>Units</i> , Einheit
USA	<i>United States of America</i> , Vereinigte Staaten von Amerika
vs.	versus
vWF	von-Willebrand-Faktor
vWS	von-Willebrand-Syndrom

### Sonderzeichenverzeichnis

$\alpha$	Alpha
$^{\circ}$	Grad
$<$	kleiner als
$>$	größer als
$\leq$	kleiner oder gleich
$\geq$	größer oder gleich
$\pm$	Plusminus
$\%$	Prozent
$\text{\textcircled{R}}$	<i>registered trade mark</i> , registriertes Markenzeichen
$\text{\textsuperscript{TM}}$	<i>unregistered trade mark</i> , unregistriertes Markenzeichen

### Vorsätze vor Einheiten

d	Dezi, Multiplikator: $10^{-1}$
m	Milli, Multiplikator: $10^{-3}$
$\mu$	Mikro, Multiplikator: $10^{-6}$
n	Nano, Multiplikator: $10^{-9}$

## 1 Einleitung

In den letzten Jahrzehnten wird bei steigender Evidenz transfusionsassoziierter erhöhter Morbidität und Mortalität [73, 111, 141, 144] sowie zu erwartender Verknappung der Ressource Blut eine zunehmend restriktive Transfusionspraxis empfohlen [120, 131, 133]. Für die Stabilisierung von Kreislauf- und Vitalparametern und für die Wiederherstellung des Herzzeitvolumens zur Sicherstellung einer adäquaten Gewebeoxygenierung bei Volumen- und Blutverlusten werden initial häufig Volumenersatzmittel eingesetzt [5, 50].

Unterschieden werden kristalloide und kolloidale Volumenersatzmittel, wobei Kolloide gegenüber den Kristalloiden eine längere intravasale Verweildauer besitzen und einen höheren Volumeneffekt erreichen [5, 48]. Neben dem natürlichen Kolloid Albumin, das aufgrund der Übertragungsgefahr humanpathogener Erreger und erhöhter Mortalität [1, 87] zurückhaltend eingesetzt wird, sind künstliche, Dextran-, Gelatine- oder Hydroxyethylstärke (HES)-basierte Kolloide auf dem Markt [5, 98]. Die aktuell in Europa am häufigsten verwendeten kolloidalen Lösungen sind HES-basiert [3, 71, 118].

### 1.1 Hydroxyethylstärke (HES)

Hydroxyethylstärke ist ein modifiziertes Polysaccharid [5], das auf Mais- oder Kartoffelstärkebasis durch Hydroxyethylierung der Glucosemoleküle des natürlich vorkommenden Polysaccharids Amylopektin hergestellt wird [75] (siehe Abbildung 1.1).

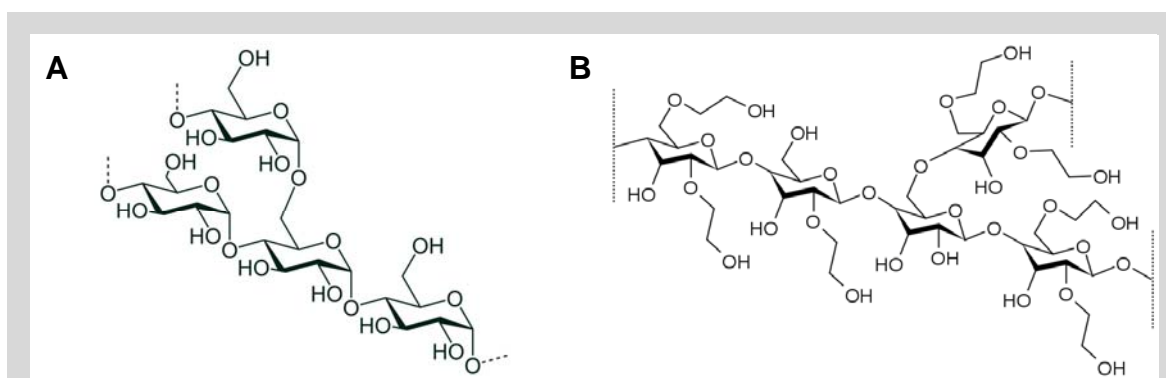


Abbildung 1.1 – Molekülstruktur von A. Amylopektin und B. Hydroxyethylstärke (Autor: Roland Mattern)

Für industrielle Zwecke wird HES seit 1934 synthetisiert, als experimentelles Volumenersatzmittel wurden HES-basierte Lösungen jedoch erstmals 1957 unter dem

Begriff Oxyethylstärke von Wiedersheim eingesetzt [35]. Trotz umfangreicher militärischer Nutzung während des Vietnamkriegs 1959 bis 1975 [35] stehen HES-Präparationen erst seit Anfang der 1970er Jahren für die zivile klinische Verwendung zur Verfügung [67, 147].

Seit der Markteinführung wurden die HES-Lösungen wiederholt hinsichtlich der HES-Konzentration, der HES-Moleküle und/oder der Trägerlösung modifiziert, so dass heutzutage HES-Präparationen angeboten werden, die sich in Bezug auf

- die Konzentration der Hydroxyethylstärke (hyponkotisch, 3 %; isoonkotisch, 6 %; hyperonkotisch, 10 %),
- die mittlere Molekülmasse der Hydroxyethylstärke (*engl. molecular weight*, MW) (niedermolekular, MW  $\leq$  70.000 Da; mittelmolekular, MW 130.000 - 270.000 Da; hochmolekular, MW  $\geq$  450.000 Da),
- den Substitutionsgrad der Hydroxyethylstärke, d.h. das Verhältnis hydroxyethylierter Glucosemoleküle zu Gesamtglucosemolekülen (*engl. degree of substitution*, DS) (niedrigsubstituiert, 0,4 - 0,42; mittelsubstituiert, 0,5; hochsubstituiert,  $>$  0,5),
- die Stärkebasis (Kartoffel- oder Maisstärke) zur Herstellung der Hydroxyethylstärke
- sowie die Trägerlösung (nicht-balanciert oder Elektrolyt-balanciert)

unterscheiden können [31, 68, 147].

Die klassische, nicht-balancierte Trägerlösung enthält 0,9 % Natriumchlorid [98, 147]; seit einigen Jahren sind zusätzlich HES-Varianten in Elektrolyt-balancierter Trägerlösung erhältlich, deren Elektrolytzusammensetzung der physiologischen Plasmazusammensetzung ähnelt [49, 147].

Für HES-basierte Lösungen wird unter den künstlichen Kolloiden die geringste Rate allergischer Reaktionen beschrieben [16, 82]. Neben den allergischen Reaktionen gehören zu den bekannten unerwünschten Arzneimittelwirkungen von HES-Lösungen Pruritus [101, 146], Nierenfunktions- [28, 58] und Gerinnungsstörungen.

## 1.2 HES-induzierte Gerinnungsstörungen

Volumensubstitution führt *per se* zu einer Hämodilution mit daraus resultierender Verdünnung und relativer Verminderung vorhandener Gerinnungsfaktoren und Thrombozyten. Für eine gesteigerte Blutungsneigung – eine Koagulopathie – bei Blut- oder Volumenverlusten kommen ursächlich der Verlust gerinnungsaktiver Substanzen



im Sinne einer Verlustkoagulopathie, im Rahmen der Therapie mit Volumenersatzmitteln auch die Dilution gerinnungsaktiver Substanzen im Sinne einer Dilutionskoagulopathie und spezifische koagulopathische Effekte der verwendeten Volumenersatzmittel sowie deren Kombinationen in Betracht [42, 95].

Für HES-basierte Kolloide wurden neben der Dilutionskoagulopathie spezifische Effekte in Form von Fibrinpolymerisationsstörungen [27, 90], Störung der Thrombozytenfunktion [20, 113] und Auftreten eines erworbenen von-Willebrand-Syndroms Typ 1 beschrieben [57, 114].

Seit der Erstbeschreibung der HES-induzierten Gerinnungsstörung im Jahr 1965 durch Thompson und Gadsden [129] hat sowohl in Hinblick auf die HES-Moleküle als auch in Hinblick auf die Zusammensetzung der Trägerlösung eine Evolution über mehrere Generationen von HES-Lösungen stattgefunden:

Die erste Generation der HES-Lösungen wurde auf der Basis hochmolekularer, hochsubstituierter Hydroxyethylstärke mit einem Substitutionsgrad um 0,7 hergestellt [67, 94]. HES-Präparationen mit einem Substitutionsgrad um 0,5 sind Vertreter der zweiten Generation [67, 94].

Mittelmolekulare, niedrigsubstituierte HES-Präparationen mit einer Molekülmasse von 130.000 Da und einem Substitutionsgrad um 0,4 stellen die sogenannte dritte Generation der HES-Lösungen dar, die sowohl nicht-balanciert (nbal), d.h. in 0,9 % Natriumchlorid gelöst, als auch in Elektrolyt-balancierter (bal) Trägerlösung erhältlich sind [62, 147].

Das Ausmaß der HES-induzierten Koagulopathie variiert je nach HES-Konzentration [33, 102], Molekülmasse [40, 130] und Substitutionsgrad [137, 142], ist aber nicht abhängig von der HES-Stärkebasis [47, 119]. Der Effekt der Trägerlösung auf die HES-induzierte Koagulopathie wird kontrovers diskutiert [19, 107].

In bereits publizierten Studien zum Einfluss der HES-Konzentration und/oder der Zusammensetzung der Trägerlösung auf die HES-induzierte Koagulopathie wurden zum Teil HES-Präparationen miteinander verglichen, die sich in mehreren Aspekten der Zusammensetzung unterscheiden. Eine Schlussfolgerung zum Effekt der Konzentration oder der Trägerlösung allein ist durch das Vorhandensein mehrerer potentieller

Einflussfaktoren nur bedingt möglich. Tabelle 1.1 gibt einen Überblick über bisher publizierte Studien, auf die diese Einschränkung zutrifft.

Tabelle 1.1 – Übersicht über Publikationen zum Einfluss der HES-Konzentration und/oder der Zusammensetzung der Trägerlösung auf die HES-induzierte Koagulopathie: HES-Präparationen in mehr als einem Aspekt unterschiedlich

<b>Autor, Publikationsjahr</b>	<b>Studiendesign</b>	<b>untersuchte HES-Präparationen</b>	<b>Literatur-nachweis</b>
<i>Treib et al., 1996</i>	<i>in vivo</i>	6 % nbal HES, MW 200.000 Da, DS 0,62 vs. 10 % nbal HES, MW 200.000 Da, DS 0,5	[137]
<i>Strauss et al., 2002</i>	<i>in vivo</i>	6 % nbal HES, MW > 450.000 Da, DS 0,7 vs. 10 % nbal HES, MW 264.000 Da, DS 0,45	[124]
<i>Roche et al., 2002</i>	<i>in vitro</i>	6 % nbal HES, MW 450.000 Da, DS 0,6 vs. 6 % bal HES, MW 670.000 Da, DS 0,75	[108]
<i>Roche et al., 2006</i>	<i>in vitro</i>	6 % nbal HES, MW 450.000 Da, DS 0,6 vs. 6 % bal HES, MW 670.000 Da, DS 0,7	[106, 107]
<i>Ahn et al., 2008</i>	<i>in vitro und in vivo</i>	6 % nbal HES, MW 130.000 Da, DS 0,4 vs. 6 % bal HES, MW 670.000 Da, DS 0,75	[6]
<i>Sossdorf et al., 2009</i>	<i>in vitro</i>	6 % nbal HES, MW 130.000 Da, DS 0,4 vs. 10 % nbal HES, MW 200.000 Da, DS 0,5	[122]
<i>Adam et al., 2010</i>	<i>in vitro</i>	6 % nbal HES, MW 70.000 Da, DS 0,5 vs. 6 % nbal HES, MW 450.000 Da, DS 0,7 vs. 10 % nbal HES, MW 200.000 Da, DS 0,5	[4]

Verwendete Abkürzungen: isoonkotisch (6 %), hyperonkotisch (10 %), Elektrolyt-balanciert (bal), Substitutionsgrad (DS), Hydroxyethylstärke (HES), nicht-balanciert (nbal), versus (vs.), Molekülmasse (MW).

Zum Einfluss der HES-Konzentration und/oder der Zusammensetzung der Trägerlösung auf die HES-induzierte Koagulopathie existieren in der Literatur auch Studien, die Präparationen identischer Molekülmasse und vergleichbaren Substitutionsgrades einander gegenüber stellten. In Hinblick auf den Einfluss der HES-Konzentration wurden bisher Präparationen der zweiten Generation untersucht, in Hinblick auf den Einfluss der Trägerlösung isoonkotische Präparationen aller Generationen. Studien, in denen sich die untersuchten HES-Präparationen entweder ausschließlich in der HES-Konzentration oder in der Trägerlösung der HES-Präparation unterscheiden, sind in Tabelle 1.2 in der Publikationsreihenfolge aufgeführt. Limitierend für diese Aussage ist, dass in einigen Arbeiten die verwendeten HES-Präparationen nicht eindeutig klassifiziert sind und Angaben zur genauen Molekülmasse und/oder Substitutionsgrad fehlen.

Tabelle 1.2 – Übersicht über Publikationen zum Einfluss der HES-Konzentration oder der Zusammensetzung der Trägerlösung auf die HES-induzierte Koagulopathie: HES-Präparationen in einem Aspekt unterschiedlich

<b>Autor, Publikationsjahr</b>	<b>Studiendesign</b>	<b>untersuchte HES-Präparationen</b>	<b>Literatur-nachweis</b>
<i>Gan et al., 1999</i>	<i>in vivo</i>	6 % nbal HES, MW hoch, DS hoch vs. 6 % bal HES, MW hoch, DS hoch	[45]
<i>Petroianu et al., 2000</i>	<i>in vitro</i>	6 % nbal HES, MW 200.000 Da, DS 0,5 vs. 10 % nbal HES, MW 200.000 Da, DS 0,5	[102]
<i>Ekseth et al., 2002</i>	<i>in vitro</i>	6 % HES, MW 200.000 Da, DS unbekannt vs. 10 % HES, MW 200.000 Da, DS unbekannt	[33]
<i>Dailey et al., 2005</i>	<i>in vitro</i>	6 % nbal HES, MW hoch, DS hoch vs. 6 % bal HES, MW hoch, DS hoch	[26]
<i>Roche et al., 2006</i>	<i>in vitro</i>	6 % nbal HES, MW 200.000 Da, DS 0,5 vs. 6 % bal HES, MW 200.000 Da, DS 0,5	[106, 107]
<i>Casutt et al., 2010</i>	<i>in vitro</i>	6 % nbal HES, MW 130.000 Da, DS 0,4 vs. 6 % bal HES, MW 130.000 Da, DS 0,42 *	[19]
<i>Lindroos et al., 2011</i>	<i>in vitro</i>	6 % nbal HES, MW 130.000 Da, DS 0,4 vs. 6 % bal HES, MW 130.000 Da, DS 0,4	[84]

\* Aufgrund der in der Literatur beschriebenen vergleichbaren Gerinnungsauswirkung der Substitutionsgrade 0,4 und 0,42 [47, 119] wurden die Lösungen dieser Studie als ausschließlich unterschiedlich in der Zusammensetzung der Trägerlösungen klassifiziert. Verwendete Abkürzungen: Elektrolyt-balanciert (bal), Substitutionsgrad (DS), Hydroxyethylstärke (HES), nicht-balanciert (nbal), versus (vs.), Molekülmasse (MW).

### 1.3 HES-induzierte Koagulopathie: Einfluss der HES-Konzentration

10-prozentige HES-Lösungen weisen im Vergleich zu isoonkotischen 6-prozentigen Lösungen eine höhere Konzentration der HES-Moleküle auf, sind hyperonkotisch, und erreichen einen größeren Volumeneffekt als 6-prozentige Lösungen [5, 135, 147]. In der Volumentherapie septischer Patienten wurden Sauerstofftransport und Hämodynamik durch eine hyperonkotische HES-Lösung im Vergleich mit einer isoonkotischen Lösung signifikant verbessert [41]. Eine Verbesserung der Hämodynamik wurde auch in der Kardiochirurgie bei Einsatz einer hyperonkotischen HES als Priming-Lösung der Herz-Lungen-Maschine beobachtet [32]. In Hinblick auf die Nierenfunktionsstörungen dagegen sind für eine hyperonkotische HES-Lösung der zweiten Generation im Vergleich zu einer isoonkotischen HES-Präparation der dritten Generation stärkere Nierenschädigungen nachgewiesen worden [34, 58].

Eine weitere relevante Limitation für den klinischen Einsatz der höher konzentrierten HES-Lösungen stellt die HES-induzierte Gerinnungsstörung dar, deren Ausprägung im Vergleich zu isoonkotischen HES-Präparationen als verstärkt beschrieben wurde [33, 102]. Sowohl Molekülmasse als auch Substitutionsgrad der in den entsprechenden Studien verwendeten HES-Präparationen waren höher als in modernen Lösungen [33,

102]. Für beide Faktoren wurde unabhängig von der HES-Konzentration eine Verstärkung der Koagulopathie nachgewiesen [130, 142].

Die Beeinträchtigung der Gerinnung durch eine hyperonkotische HES-Lösung der dritten Generation im Vergleich zu einer isoonkotischen Lösung identischer Molekülmasse und vergleichbaren Substitutionsgrades ist bislang nicht hinreichend untersucht worden, und ist ein Gegenstand dieser Arbeit.

#### **1.4 HES-induzierte Koagulopathie: Einfluss der Trägerlösung**

Die Infusion von Natriumchlorid-basierten Lösungen kann eine metabolische, hyperchlorämische Azidose verursachen [89, 116]. Die sogenannten plasmaadaptierten, Elektrolyt-balancierten Trägerlösungen enthalten weniger Natrium- und Chloridionen als die nicht-balancierten, 0,9 % Natriumchlorid-basierten Lösungen. Zusätzlich sind in den plasmaadaptierten Trägerlösungen Kationen wie Kalium- oder Calciumionen sowie metabolisierbare Anionen wie Malat, Acetat oder Laktat enthalten [98, 147]. Für Elektrolyt-balancierte Infusions- und Trägerlösungen wurden signifikant geringere Raten an metabolischen Störungen nachgewiesen [126, 148].

Unabhängig von dem beschriebenen positiven metabolischen Effekt konnte in einigen *in vitro*-Studien durch den Einsatz einer Elektrolyt-balancierten Trägerlösung kein positiver Effekt auf die Gerinnungsstörung demonstriert werden [19, 26, 84]. Kontrovers dazu wurde in *in vitro*- bzw. *in vivo*-Studien für isoonkotische Elektrolyt-balancierte HES-Präparationen eine geringere Gerinnungsstörung verglichen mit nicht-balancierten Präparationen beschrieben [6, 106-108].

Ob sich die beschriebene Koagulopathie iso- und hyperonkotischer HES-basierter Kolloide in nicht-balancierter Trägerlösung durch den Einsatz einer Elektrolyt-balancierten Trägerlösung reduzieren lässt, wird bislang kontrovers diskutiert bzw. ist nur in Teilaspekten untersucht worden, und ist ebenfalls ein Gegenstand dieser Arbeit.

#### **1.5 HES-induzierte Koagulopathie: erworbenes von-Willebrand-Syndrom Typ 1**

Das von-Willebrand-Syndrom (vWS) ist eine häufige Gerinnungsstörung mit einer Prävalenz von ca. 1 % [8]. Benannt ist diese Störung nach dem finnischen Arzt Erik Adolf von Willebrand, der das angeborene vWS bereits Anfang der 1920er Jahre beschrieb [117]. 1972 konnten Holmberg und Nilsson erstmals zwei unterschiedliche

---

genetische Varianten nachweisen und differenzierten quantitative und qualitative Defekte [55]. Heutzutage werden angeborene und erworbene von-Willebrand-Syndrome unterschieden [117]. Das von-Willebrand-Syndrom wird in die Haupttypen 1 bis 3, Typ 2 weiterhin in die Subtypen 2A, 2B, 2N und 2M unterteilt [8].

Alle (Sub-)Typen des vWS können mit einer erhöhten Blutungsneigung assoziiert sein, die durch eine quantitative (vWS Typen 1 und 3) und/oder qualitative Veränderung (vWS Typ 2) des von-Willebrand-Faktors (vWF) hervorgerufen wird. Der vWF ist ein multifunktionales Plasmaprotein, zu dessen Funktionen die Thrombozytenadhäsion an verletztes Endothel und die Thrombozytenaggregation gehören; er ist zudem Träger- und Schutzprotein des Blutgerinnungsfaktors VIII [8]. Der vWF ist bei dem vWS Typ 1 vermindert und fehlt bei dem vWS Typ 3 fast vollständig [117].

Die erweiterte Labordiagnostik bei Verdacht auf ein vWS umfasst neben der Quantifizierung des vWF-Antigens (vWF:Ag) eine funktionelle Aktivitätsbeurteilung des vWF und die Bestimmung der Faktor VIII-Aktivität [36], ferner die Multimeranalyse [117]. Für die funktionelle Aktivitätsbeurteilung stehen mehrere Tests zur Verfügung: der Ristocetin-Cofaktor (vWF:RCo), die Collagenbindungsaktivität (vWF:CBA) sowie die Aktivitätsbestimmung über die Glykoprotein Ib (Gplb)-Bindung mittels Enzymgekoppeltem Immunadsorptionstest (*engl. Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay, ELISA*) (vWF:Gplb) oder turbidimetrisch mittels HemosIL™-Test (vWF:Akt) [117, 125].

Das von-Willebrand-Syndrom Typ 1 ist laborchemisch durch eine verringerte Konzentration des vWF-Antigens und als Folge dessen des Faktor VIII (FVIII) sowie eine verminderte funktionelle Aktivität des vWF gekennzeichnet [117].

Das HES-induzierte, erworbene von-Willebrand-Syndrom wurde erstmals 1987 von Sanfelippo et al. beschrieben [114]. Treib et al. konnten in einer *in vivo*-Studie durch Multimeranalyse den Nachweis erbringen, dass es sich bei dem HES-induzierten, erworbenen von-Willebrand-Syndrom um ein vWS Typ 1 handelt [139]. Dieses tritt passager in Zusammenhang mit einer HES-Gabe auf und ist reversibel [66]. Das HES-induzierte, erworbene vWS Typ 1 wurde inzwischen für hoch-, mittel- und niedermolekulare HES-Lösungen beschrieben [64, 124, 139]. Als Ursachen werden eine Inhibition der endothelialen vWF-Freisetzung [23] sowie eine Komplexbildung von HES-Molekülen mit dem vWF und/oder vWF/FVIII-Komplex und dessen erhöhte Eliminationsrate diskutiert [139, 140].

Die Plasmahalbwertszeit des vWF ist blutgruppenabhängig [44]; der vWF ist ein Plasmaprotein mit AB0-Antigenexpression [121]. Träger der Blutgruppe 0 haben die kürzeste vWF-Plasmahalbwertszeit [44] und physiologisch um bis zu 35 % niedrigere Spiegel des vWF-Antigens, des Faktor VIII und der vWF-Aktivität als Träger der Blutgruppen A, B oder AB [36, 46, 103, 134].

Für Träger der Blutgruppe 0 mit physiologisch niedrigeren vWF- und FVIII-Spiegeln wird in der Literatur ein höheres Risiko eines durch 6-prozentige mittelmolekulare HES-Lösungen (MW 200.000 Da, DS 0,6 bzw. MW 130.000 Da, DS 0,4) induzierten erworbenen von-Willebrand-Syndrom postuliert [57, 69]. In einer zweiten publizierten *in vivo*-Studie mit einer modernen 6-prozentigen HES-Lösung (MW 130.000 Da, DS 0,4) zum Einfluss der Blutgruppe 0 versus Non-0 auf die HES-induzierte Koagulopathie ließen sich dagegen keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich des vWF-Antigens nachweisen. Als Limitation dieser Studie ist die ausschließliche Verwendung einer nicht-balancierten HES-Lösung der dritten Generation zu nennen [22].

Der Effekt sowohl der HES-Konzentration als auch der Zusammensetzung der Trägerlösung von HES-Präparationen der dritten Generation unter Berücksichtigung der Blutgruppe auf das HES-induzierte erworbene von-Willebrand-Syndrom Typ 1 ist ein weiterer Gegenstand dieser Arbeit.

### **1.6 Diagnostik der HES-induzierten Gerinnungsstörungen**

Für die *in vitro*-Diagnostik der Koagulopathie stehen Labortests der Routinediagnostik, Spezialtests, Thrombozytenfunktionstests, molekularbiologische Untersuchungen und sogenannte Point-of-Care-Tests zur Verfügung [10].

Zu den Parametern der Routinediagnostik zählen unter anderem die Thrombozytenzahl im Blutbild, die Thromboplastinzeit und die aktivierte partielle Thromboplastinzeit, zu den Spezialtests darüber hinaus die Einzelfaktorenbestimmung und die von-Willebrand-Diagnostik [10]. Mit Ausnahme der Thrombozytenzahl wird für die Routinediagnostik und die Einzelfaktorenbestimmung thrombozytenarmes Plasma verwendet, so dass eine Überprüfung der Thrombozytenfunktion nicht möglich ist. Die Thrombozytenfunktion kann mit der *in vivo*-Blutungszeit [117], *in vitro* mit der *in vitro*-Blutungszeit (PFA-100®-Test), Thrombozytenaggregationsuntersuchungen mittels Aggregometrie

wie dem Multiplate<sup>®</sup>-System (Vollblut-Impedanzaggregometrie) oder der Durchflussszytometrie beurteilt werden [10].

Während die Durchführung der Routine- und Speziallabortests aufgrund aufwendiger Probenvorbereitung oder ressourcenaufwendiger Methoden meist entsprechend ausgestatteten Laboratorien vorbehalten ist, bieten Point-of-Care-Methoden die Vorteile, laborunabhängig, patientennah und ohne umfangreiche Probenvorbereitung mit Vollblut durchgeführt werden zu können [10].

Als Point-of-Care-Test im Rahmen der Koagulopathiediagnostik und -therapieüberwachung kann die Thrombelastographie/-metrie eingesetzt werden [29, 76]. Im Gegensatz zu den klassischen Gerinnungstests wird mit der aktivierten und nicht-aktivierten Thrombelastographie/-metrie der gesamte plasmatische Gerinnungsablauf von der Initiierung der Hämostase über die Thrombingeneration und Gerinnselformung bis zur Lyse abgebildet und ermöglicht die zeit- und patientennahe Beurteilung von Gerinnselfestigkeit, Gerinnselformung und des thrombozytären Anteils am Gerinnselformung [80]. Zusätzlich zu diesen Informationen werden auch die Zeiten bis zur ersten Ausbildung des Gerinnselformung, die Dynamik der Gerinnselformung und der Lyse transparent [80]. Hinsichtlich der Beurteilung der Thrombozytenfunktion ist einschränkend zu beachten, dass bei Hinweisen auf einen verminderten thrombozytären Anteil am Gerinnselformung eine Differenzierung zwischen Thrombozytopenie und Thrombozytenfunktionsstörung mittels Thrombelastographie/-metrie nicht möglich ist [80].

Neben der Point-of-Care-Koagulopathiediagnostik und -therapieüberwachung im klinischen Alltag wird die Thrombelastographie/-metrie *in vitro* und *in vivo* in der Diagnostik der HES-induzierten (Dilutions-)Koagulopathie eingesetzt [39, 59].

Nach HES-Infusionen wurde klinisch eine erhöhte Blutungsneigung beobachtet [24, 52, 129]. Hämodilutionsstudien, in denen die Gerinnungsfunktion mit der aktivierten Thrombelastographie/-metrie gemessen wurde, beschrieben eine verzögerte Gerinnselformung und eine verminderte Gerinnselfestigkeit mit dem klinischen Bild einer Hypokoagulabilität [27, 43, 65].

Eine stärkere Ausprägung dieser Gerinnungsstörung wurde mittels Thrombelastographie/-metrie für hyperonkotische im Vergleich zu isoonkotischen HES-Lösungen [33, 102] und für hochmolekulare im Vergleich zu mittelmolekularen HES-

Lösungen beobachtet [130]. Kontroverse Daten wurden mittels Thrombelastographie/-metrie für nicht-balancierte im Vergleich zu Elektrolyt-balancierten HES-basierten Lösungen publiziert [19, 26, 45, 107].

### **1.7 Fragestellung**

In Anbetracht der Bedeutung HES-basierter Kolloide in der Therapie von Blut- und Volumenverlusten ist für ein verbessertes perioperatives Volumenmanagement die größtmögliche Reduktion der HES-induzierten Koagulopathie von klinischem Interesse. In der vorliegenden Studie wird systematisch die HES-induzierte Koagulopathie in milder bis schwerer *in vitro*-Hämodilution mit modernen, mittelmolekularen niedrigsubstituierten HES-basierten Volumenersatzlösungen der sogenannten dritten Generation untersucht, um folgende Fragestellung beantworten zu können:

1. Hat die Konzentration der eingesetzten Hydroxyethylstärke (6 % versus 10 %) bei der *in vitro*-Hämodilution mit modernen, mittelmolekularen niedrigsubstituierten HES-basierten Volumenersatzlösungen einen Einfluss auf das plasmatische Gerinnungssystem, das von-Willebrand-System und auf die mittels Thrombelastometrie gemessenen dynamischen Funktionsparameter?
2. Spielt die Art der Trägerlösung, d.h. nicht-balanciert bzw. Elektrolyt-balanciert, bei der *in vitro*-Hämodilution mit modernen, mittelmolekularen niedrigsubstituierten HES-basierten Volumenersatzlösungen für die mit Parametern der plasmatischen Gerinnung, des von-Willebrand-Systems und der Thrombelastometrie gemessenen HES-induzierten Koagulopathie eine Rolle?
3. Lässt sich die publizierte blutgruppenabhängige Ausprägung des HES-induzierten erworbenen von-Willebrand-Syndroms Typ 1 für die modernen HES-Lösungen der dritten Generation reproduzieren?



## 2 Material und Methoden

### 2.1 Studiendesign

Die in dieser Arbeit vorgestellte systematische Untersuchung des Einflusses moderner, mittelmolekularer und niedrigsubstituierter Hydroxyethylstärke (HES)-basierter Volumenersatzlösungen in milder bis schwerer Hämodilution auf das plasmatische Gerinnungssystem, das von-Willebrand-System und auf die mittels Thrombelastometrie (TEM) gemessenen dynamischen Funktionsparameter wurde *in vitro* an der Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin, Campus Virchow-Klinikum und Campus Charité Mitte in Kooperation mit dem Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Pathobiochemie der Charité – Universitätsmedizin Berlin durchgeführt, sofern es nicht anders angegeben ist.

Zur Beantwortung der Fragestellung nach dem Einfluss der HES-Konzentration und der Trägerlösung wurden iso- und hyperonkotische HES-Lösungen jeweils in nicht-balancierter und Elektrolyt-balancierter Trägerlösung untersucht. Als Basis für die *in vitro*-Hämodilution wurde Citratblut verwendet. Die Ausprägung der Hämodilution ist über den Hämatokrit (Hkt) als mild (Hkt > 0,25 l/l), moderat (Hkt 0,21 - 0,25 l/l) bzw. schwer (Hkt < 0,21 l/l) definiert [70]. Um die genannten Hämatokritbereiche durch die nachfolgende Dilution mit den HES-Lösungen zu erreichen, wurden die Dilutionsstufen 20 %, 40 % und 60 % hergestellt. Das Studiendesign ist in Abbildung 2.1 schematisch dargestellt.

### Probanden

Nach Genehmigung durch die Ethikkommission der Charité – Universitätsmedizin Berlin (Amendment 2 zu Studie EK-Nr.: EA2/006/07 vom 05.11.2008), mündlicher und schriftlicher Aufklärung sowie schriftlicher Einverständniserklärung wurden freiwillige, gesunde Probanden in diese Studie eingeschlossen.

Zur Überprüfung der Hypothese, dass Träger der Blutgruppe 0 ein höheres Risiko für die Entwicklung eines HES-induzierten erworbenen von-Willebrand-Syndroms Typ 1 haben, wurden sowohl Probanden der Blutgruppe 0 als auch Probanden der Blutgruppe A eingeschlossen.

Ausschlusskriterien waren die Eigenanamnese einer Gerinnungsstörung (thrombophile Störung oder Blutungsneigung), das Vorliegen renaler, hepatischer oder hämatologischer Erkrankungen, eine Einnahme gerinnungshemmender und/oder thrombozytenfunktionsverändernder Medikamente innerhalb der letzten 14 Tage, ein Alter unter 18 Jahren oder das Nichtvorliegen der schriftlichen Einverständniserklärung.

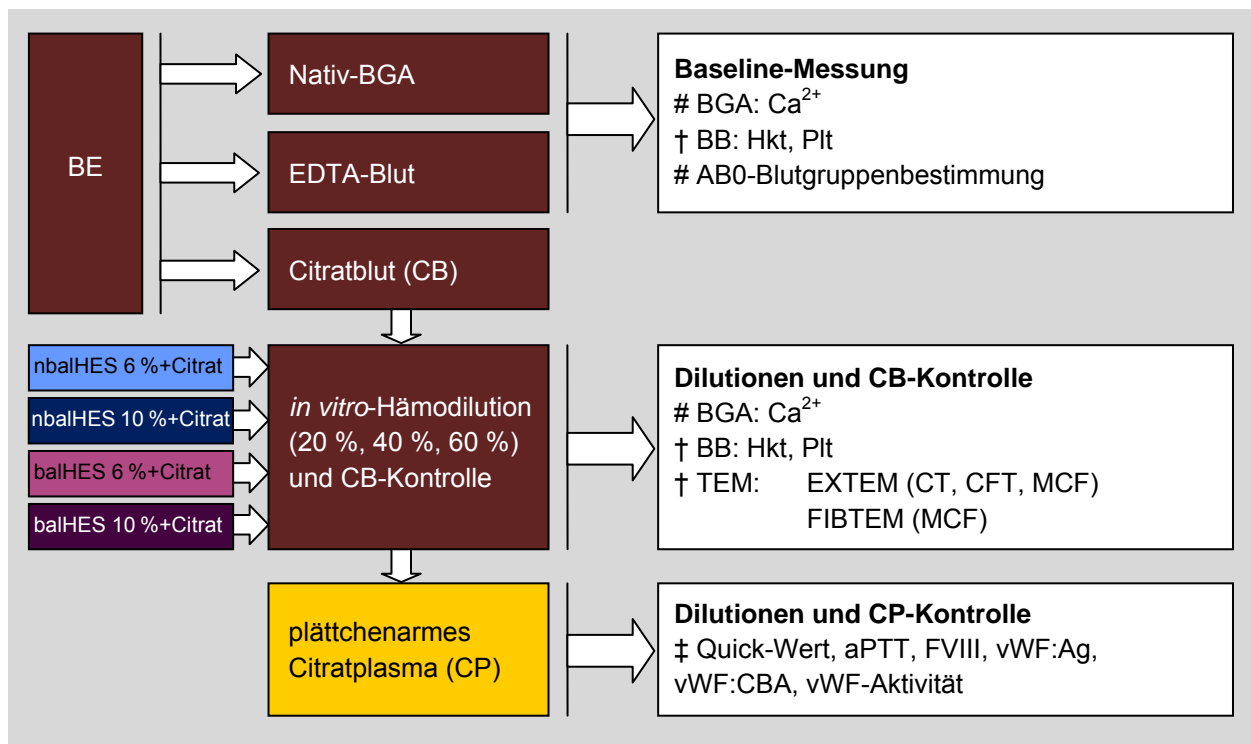


Abbildung 2.1 – Studiendesign

Beteiligte Institutionen: # Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin, CCM/CVK, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Deutschland, † Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Pathobiochemie, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Deutschland, ‡ Institut für Medizinische Diagnostik Oderland, Frankfurt/Oder, Deutschland.

Verwendete Abkürzungen: Antigen (Ag), aktivierte partielle Thrombinzeit (aPTT), Elektrolyt-balanciert (bal), Blutentnahme (BE), Blutbild (BB), Blutgasanalyse (BGA), ionisiertes Calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ), Citratblut (CB), Collagenbindungsaktivität (CBA), Clot formation time (CFT), Citratplasma (CP), Clotting Time (CT), Ethylendiamintetraacetat (EDTA), Faktor VIII (FVIII), Hydroxyethylstärke (HES), Hämatokrit (Hkt), Maximum Clot Firmness (MCF), nicht-balanciert (nbal), Thrombozyten (Plt), Thrombelastometrie (TEM), von-Willebrand-Faktor (vWF).

## Blutproben

Unter sterilen Kautelen wurden aus einer ungestauten Antecubitalvene über eine 21 G-Butterflykanüle (BD Vacutainer® Systems Blood Collection Set, Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, New Jersey, USA) unter minimalem Sog insgesamt 49 ml Vollblut für die beschriebenen Untersuchungen abgenommen.

Die Gesamtblutmenge ergab sich für die geplanten Messungen aus:

- 2 ml Vollblut, die in einen Allzweck-Katheter-Probennehmer mit Elektrolyt-kompensiertem Lithium/Natrium-Trocken-Heparin (PICO50, Radiometer Medical ApS, Brønshøj, Dänemark) für die Nativ-Blutgasanalyse (BGA) und die Bestimmung der AB0-Blutgruppe (BG) abgenommen wurden,
- zweimal 18 ml Vollblut, die in je eine mit 2 ml Natriumcitratlösung (Natriumcitrat-Lösung 3,13 % Eifefango<sup>®</sup>, Eifefango Chem. Pharm. Werke, Bad Neuenahr-Ahrweiler, Deutschland) vorgefüllte 20 ml Spritze, resultierend in Citratblut (CB) im Verhältnis 9:1, d.h. 9 Teile Vollblut und 1 Teil Natriumcitratlösung, für die *in vitro*-Hämodilution abgenommen wurden,
- 9 ml Vollblut, die in eine mit 1 ml Natriumcitratlösung (Natriumcitrat-Lösung 3,13 % Eifefango<sup>®</sup>, Eifefango Chem. Pharm. Werke, Bad Neuenahr-Ahrweiler, Deutschland) vorgefüllte 20 ml Spritze, resultierend in Citratblut im Verhältnis 9:1, ebenfalls für die *in vitro*-Hämodilution abgenommen wurden, und
- 2 ml Vollblut, die in ein EDTA-Röhrchen (BD Vacutainer<sup>®</sup> EDTA Röhrchen, Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, New Jersey, USA) zur Bestimmung des Ausgangsblutbildes (Baseline) abgenommen wurden.

Eine gleichmäßige Durchmischung mit den Zusatzstoffen (Lithium/Natrium-Heparin, Natriumcitratlösung bzw. EDTA) wurde durch mehrmaliges vorsichtiges Schwenken der Behälter unmittelbar nach der Blutabnahme gewährleistet.

Durch die initiale Abnahme der 2 ml Vollblut für die native Blutgasanalyse und die Blutgruppenbestimmung konnte eine Kontamination des für die Thrombelastometrie-Analysen vorgesehenen Citratbluts mit Gewebe-Thromboplastin weitgehend ausgeschlossen werden [10]. Das Citratblut wurde im Anschluss an die Blutentnahme in vier 13 ml-Polypropylen (PP)-Röhrchen (Sarstedt AG, Nürnberg, Deutschland) überführt, aus denen nach mehrmaligem vorsichtigem Schwenken das Blut für die Dilutionen pipettiert wurde.

## Volumenersatzlösungen

Für die *in vitro*-Hämodilution wurden die folgenden vier modernen, mittelmolekularen niedrigsubstituierten HES-basierten Volumenersatzlösungen verwendet:

- nicht-balancierte, isoonkotische 6-prozentige HES-Lösung (Voluven<sup>®</sup>, Fresenius Kabi Deutschland AG, Bad Homburg, Deutschland)
- nicht-balancierte, hyperonkotische 10-prozentige HES-Lösung (kommerziell nicht erhältliche Lösung, freundliche Zurverfügungstellung durch B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland)
- Elektrolyt-balancierte, isoonkotische 6-prozentige HES-Lösung (Tetraspan 6 %, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland)
- Elektrolyt-balancierte, hyperonkotische 10-prozentige HES-Lösung (Tetraspan 10 %, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland)

In Tabelle 2.1 sind die physikochemischen Eigenschaften der vier verwendeten Volumenersatzlösungen vergleichend dargestellt.

Tabelle 2.1 – Physikochemische Eigenschaften der Volumenersatzlösungen für die *in vitro*-Hämodilution entsprechend den Herstellerangaben

	<b>6 % nbal HES</b>	<b>10 % nbal HES</b>	<b>6 % bal HES</b>	<b>10 % bal HES</b>
<i>Basis</i>	Poly(O-2-hydroxy-ethyl)stärke	Poly(O-2-hydroxy-ethyl)stärke	Poly(O-2-hydroxy-ethyl)stärke	Poly(O-2-hydroxy-ethyl)stärke
<i>Konzentration [g/l]</i>	60,0	100,0	60,0	100,0
<i>mittlere Molekülmasse [Da]</i>	130.000	130.000	130.000	130.000
<i>molare Substitution</i>	0,38 - 0,45	0,42	0,42	0,42
<i>Natrium [mmol/l]</i>	154	154	140	140
<i>Kalium [mmol/l]</i>	-	-	4,0	4,0
<i>Calcium [mmol/l]</i>	-	-	2,5	2,5
<i>Chlorid [mmol/l]</i>	154	154	118	118
<i>Acetat [mmol/l]</i>	-	-	24	24
<i>Magnesium [mmol/l]</i>	-	-	1,0	1,0
<i>Malat [mmol/l]</i>	-	-	5,0	5,0
<i>theor. Osmolarität [mosmol/l]</i>	308	309	296	297
<i>pH</i>	4,0 - 5,5	4,0 - 6,5	5,6 - 6,4	5,6 - 6,4
<i>Hersteller</i>	FK	BBM	BBM	BBM

Verwendete Abkürzungen: Elektrolyt-balanciert (bal), B. Braun Melsungen AG (BBM), Fresenius Kabi Deutschland AG (FK), Hydroxyethylstärke (HES), nicht-balanciert (nbal), theoretisch(e) (theor.).

## **Herstellung der Dilutionen**

Die Volumenersatzlösungen wurden vor Herstellung der Dilutionen ebenfalls im Verhältnis 9:1 mit Natriumcitratlösung (Natriumcitrat-Lösung 3,13 % Eifefango<sup>®</sup>, Eifefango Chem. Pharm. Werke, Bad Neuenahr-Ahrweiler, Deutschland) substituiert, um über die Dilutionsstufen eine gleiche Citratkonzentration zu gewährleisten. Dazu wurden jeweils 9 ml Volumenersatz- und 1 ml Natriumcitratlösung in ein 13 ml-PP-Röhrchen (Sarstedt AG, Nürnberg, Deutschland) gegeben und die Lösung durch vorsichtiges Schwenken vermischt.

Für die Herstellung der 20-prozentigen Dilutionen wurden 1 ml citratsubstituierte Dilutionslösung mit 4 ml Citratblut, für die 40-prozentigen Dilutionen 2 ml citratsubstituierte Dilutionslösung mit 3 ml Citratblut und für die 60-prozentigen Dilutionen 3 ml citratsubstituierte Dilutionslösung mit 2 ml Citratblut auf ein Gesamtvolumen von 5 ml in 13 ml-PP-Röhrchen (Sarstedt AG, Nürnberg, Deutschland) pipettiert. Ein 5 ml-Citratblut-Aliquot diente als unverdünnte Kontrolle.

Im Rahmen der Qualitätssicherung wurde als Dilutionskontrolle der Hämatokrit aller hergestellten Dilutionen bezogen auf die jeweilige unverdünnte Kontrolle überprüft.

## **2.2 Blutgruppenbestimmung**

Zur Bestätigung der von den Probanden bei Einschluss in die Studie angegebenen ABO-Blutgruppe wurde diese mittels Bedside-Test (Medtrokarte<sup>®</sup>, Medtro GmbH, Leimen Gau, Deutschland) aus dem BGA-Blut bestimmt.

## **2.3 Konventionelle Laborparameter**

### **Hämatokrit und Thrombozytenzahl**

Zum Ausschluss möglicher pathologischer Werte vor der *in vitro*-Hämodilution wurden aus dem EDTA-Blut als Ausgangsmessung Blutbilder (Hämatokrit und Thrombozytenzahl) an einem automatischen Blutbildanalysator (Sysmex XE-2100, Sysmex Deutschland GmbH, Norderstedt, Deutschland) des Instituts für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Pathobiochemie (ILP) der Charité – Universitätsmedizin Berlin gemessen. Folgende Referenzbereiche werden vom ILP der Charité – Universitätsmedizin Berlin angegeben: Referenzbereich für den Hämatokrit

geschlechtsabhängig, für Männer 0,40 - 0,52 l/l bzw. für Frauen 0,35 - 0,47 l/l, für Thrombozyten geschlechtsunabhängig 150 - 400 /nl.

Aus allen Dilutionen und der unverdünnten Citratblut-Kontrolle wurden zur Bestimmung von Hämatokrit und Thrombozytenzahl im Rahmen der *in vitro*-Hämodilution Blutbilder (Sysmex XE-2100, Sysmex Deutschland GmbH, Norderstedt, Deutschland) angefertigt.

### **Blutgasanalysen**

Ebenfalls zum Ausschluss möglicher pathologischer Werte vor der *in vitro*-Hämodilution wurden Baseline-BGAs zur Bestimmung von ionisiertem Calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) in heparinisiertem Blut an einem Blutgasanalysator (ABL 725, Radiometer Medical ApS, Brønshøj, Dänemark) erstellt. Der Referenzbereich für ionisiertes Calcium wird vom Hersteller des Blutgasanalysators mit 1,15 - 1,29 mmol/l angegeben.

Aus allen Dilutionen und der unverdünnten Citratblut-Kontrolle wurden nach der *in vitro*-Hämodilution zur Bestimmung des ionisierten Calciums Blutgasanalysen vor Recalcifizierung (ABL 725, Radiometer Medical ApS, Brønshøj, Dänemark) angefertigt.

### **Parameter der plasmatischen Gerinnung und des von-Willebrand-Systems**

Zur Herstellung plättchenarmen Citratplasmas für die laborchemische Bestimmung der plasmatischen Gerinnungs- und der von-Willebrand-Parameter wurden nach den Blutbildern, Blutgasanalysen und Thrombelastometriemessungen die Probenreste der Dilutionen und der unverdünnten Citratblut-Kontrolle zunächst für zehn Minuten bei 18°C mit 4000 rpm zentrifugiert, der Überstand jeweils in ein neues, zuvor beschriftetes 5 ml-Polyesterol-Röhrchen (Sarstedt AG, Nürnberg, Deutschland) pipettiert und erneut für zehn Minuten bei 18°C mit 4000 rpm zentrifugiert (Universal 320R, Andreas Hettich GmbH, Tuttlingen, Deutschland). 2 ml Überstand wurden anschließend in zuvor beschriftete 2 ml Safe-Lock Reaktionsgefäße (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) transferiert und bei -80°C bis zur weiteren Verarbeitung gelagert. Die Zeitspanne zwischen Blutentnahme und Einfrieren lag in jedem Fall innerhalb der empfohlenen maximal vier Stunden [10].

Die Bestimmung der Parameter des plasmatischen Gerinnungs- und des von-Willebrand-Systems erfolgte aus dem plättchenarmen Citratplasma nach Transport auf Trockeneis im Institut für Medizinische Diagnostik Oderland, Frankfurt/Oder,

Deutschland. Dazu wurden seriell jeweils maximal 20 gefrorene Plasmaproben zunächst für zehn Minuten im Wasserbad (GFL-1003, Gesellschaft für Labortechnik mbH, Burgwedel, Deutschland) aufgetaut und im Anschluss sofort gemessen. Die im Folgenden angegebenen Referenzbereiche der Parameter sind die im Institut für Medizinische Diagnostik Oderland, Frankfurt/Oder, Deutschland gültigen.

Mit dem vollautomatischen Gerinnungsdiagnostiksystem ACL TOP (Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim bei München, Deutschland) wurden folgende Parameter bestimmt:

**Quick-Wert.** Die Thromboplastinzeit (TPZ) in Sekunden bzw. der nach dem Erstbeschreiber *A.J. Quick* benannte Quick-Wert in Prozent ist ein Globalparameter der plasmatischen Gerinnung [10]. Verwendete Methode: Koagulometrie (Turbidimetrie) nach Recalcifizierung, verwendetes Reagens *HemosIL™ RecombiPlasTin* (Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim bei München, Deutschland). Der Referenzbereich ist mit 70 - 130 % angegeben.

**aPTT.** Die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) zur Diagnostik und Überwachung von Gerinnungsstörungen erfasst alle Gerinnungsfaktoren außer Faktor VII [10]. Verwendete Methode: Koagulometrie (Turbidimetrie) nach Recalcifizierung, verwendetes Reagens *HemosIL™ SynthASil* (Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim bei München, Deutschland). Der Referenzbereich ist mit 25 - 37 Sekunden angegeben.

**Faktor VIII.** Der Gerinnungsfaktor VIII ist ein heterodimeres Plasmaprotein mit  $\text{Ca}^{2+}$ - und vWF-abhängiger Strukturintegrität [110, 128, 145]. Bestimmung als Teil der Standard-von-Willebrand-Diagnostik [36]. Verwendete Methode: modifizierte aPTT mit Faktor VIII-Mangelplasma, Turbidimetrie, verwendete Reagenzien *HemosIL™ SynthASil* und *HemosIL™ Factor VIII deficient plasma* (Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim bei München, Deutschland). Der Referenzbereich ist blutgruppenunabhängig mit 50 - 150 % angegeben.

**vWF-Antigen.** Dieser Parameter wird für die quantitative Beurteilung des von-Willebrand-Faktors (vWF) im Rahmen der von-Willebrand-Diagnostik bestimmt [36]. Verwendete Methode: Latex-Immunoassay, verwendetes Reagens *HemosIL™ von Willebrand Factor Antigen (vWF:Ag) Kit* (Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim

bei München, Deutschland). Der Referenzbereich ist blutgruppenabhängig angegeben; 42 - 141 % für Blutgruppe 0, 66 - 176 % für die Blutgruppen A, B und AB.

**vWF-Aktivität.** Dieser Parameter kann für die funktionelle Aktivitätsbeurteilung des vWF im Rahmen der von-Willebrand-Diagnostik bestimmt werden [92]. Verwendete Methode: Latex-Immunoassay, verwendete Reagenzien *HemosIL™ von Willebrand Factor Activity (vWF-Activity) Kit* (Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim bei München, Deutschland). Der Referenzbereich ist blutgruppenabhängig angegeben; 40 - 126 % für Blutgruppe 0, 49 - 163 % für die Blutgruppen A, B und AB.

**vWF-Collagenbindungsaktivität (vWF:CBA).** Auch mit diesem Parameter ist eine funktionelle Aktivitätsbeurteilung des vWF im Rahmen der von-Willebrand-Diagnostik möglich [36]. Bestimmt mittels *TECHNOZYM® vWF:CBA ELISA-Kit* (Technoclone GmbH, Wien, Österreich). Der Referenzbereich ist blutgruppenunabhängig mit 0,6 - 1,3 U/ml angegeben.

## 2.4 Thrombelastometrie

Das Messverfahren der Thrombelastometrie basiert auf der von Hartert erstmalig 1948 unter dem Namen Thrombelastographie publizierten [51] und 1995 von Calatzis et al. weiterentwickelten Technik [18]. Die Bezeichnung Thrombelastographie bzw. die Abkürzung TEG® ist seit 1996 ein eingetragenes Warenzeichen der Haemoscope Corporation und wird nur noch in Verbindung mit Haemoscope-Geräten bzw. Messungen dieser verwendet. Die technisch ähnliche Variante der TEM Innovations GmbH (bis 2010: Pentapharm GmbH) verwendet die Terminologie Thrombelastometrie für den Messvorgang und ROTEM® für die zugehörigen Geräte und das grafische Messergebnis [86].

Sowohl bei der Thrombelastographie (TEG®) als auch bei der Thrombelastometrie (TEM®) wird der komplexe und dynamische Vorgang der Gerinnung von Gerinnselbildung bis zur Lyse grafisch dargestellt [80]. Bei der in dieser Studie verwendeten Thrombelastometrie taucht ein kugelgelagerter, um 4,75° alternierend rotierender Stempel in eine auf 37°C erwärmte Blutprobe (siehe Abbildung 2.2). Die Stempelbewegung wird elektronisch erfasst; Abweichungen von der ungehinderten Rotation werden grafisch als Kurve über die Zeit dargestellt [86] (siehe Abbildung 2.3).



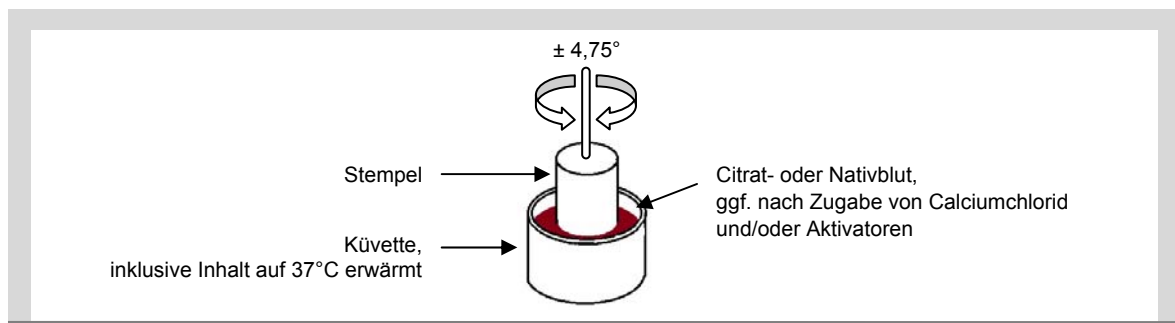


Abbildung 2.2 – Schematische Darstellung der Thrombelastometrie

Eine einsetzende Gerinnung der Blutprobe führt zu einer Ausbildung von Gerinnselfäden, die die Stempelbewegung zunehmend beeinträchtigen, bis die einsetzende Lyse des Gerinnsels die Stempelbewegung wieder weniger stark hemmt. Die Amplitude der Kurve ist Ausdruck der Bewegungshemmung, die aus der historischen Entwicklung heraus mit der Einheit *mm* und deren Maximalwert für die Rotationsbeeinträchtigung auf  $0^\circ$ , d.h. Stempelstillstand, mit 100 mm definiert ist [79].

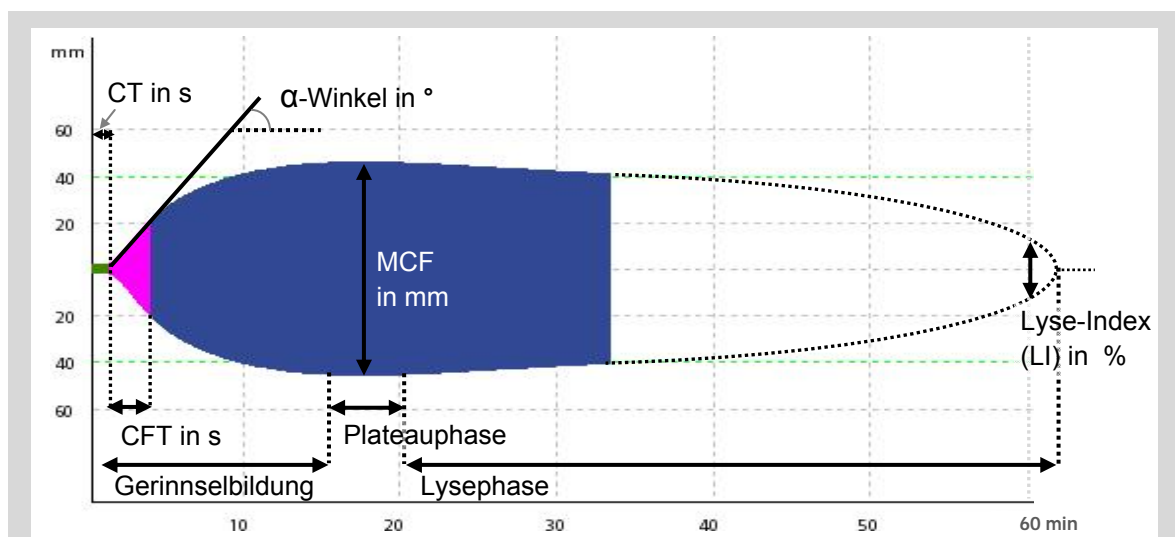


Abbildung 2.3 – ROTEM® Beispiel mit Darstellung der Phasen und Messparameter

Dargestellt ist ein um die Phasen der Gerinnung und der Messparameter ergänztes ROTEM® eines EXTEM-Tests (eigene Messung). Verwendete Abkürzungen: Clot Formation Time (CFT), Clotting Time (CT), Lyse Index (LI), Maximum Clot Firmness (MCF).

In der grafischen Darstellung, dem sogenannten ROTEM® [86], wird der komplexe Vorgang der Gerinnung und Lyse nach einer kurzen Geraden (ungehinderte Stempelrotation im ungeronnenen Blut bis zur Ausbildung erster Gerinnselfäden) durch eine initial relativ steil und dann flacher ansteigende Kurve (Hemmung der Rotation im Rahmen der Gerinnselformung), eine Plateauphase (maximale Rotationshemmung bei

maximaler Gerinnselfestigkeit) und eine Abflachung der Kurve (Ausdruck der einsetzenden Lyse) im Zeitverlauf widergespiegelt (siehe Abbildung 2.3).

Zur Beurteilung der Thrombelastometrie können u.a. die Zeitspannen zwischen Zugabe des Aktivators und Beginn der Gerinnselformung (Gerinnungszeit CT, *engl. Clotting Time*), nachfolgend die zwischen Beginn der Gerinnselformung und Erreichen der Amplitude von 20 mm (Gerinnselformungszeit CFT, *engl. Clot Formation Time*) sowie die Steilheit des Kurvenanstiegs als Tangente der CFT ( $\alpha$ -Winkel), die maximale Amplitude (maximale Gerinnselfestigkeit MCF, *engl. Maximum Clot Firmness*) und der prozentuale Anteil der Amplitude 60 Minuten nach Beginn der Gerinnselformung bezogen auf die MCF (Lyse-Index LI<sub>60</sub>) betrachtet werden [79]. Aus technischen Gründen ist die CT als Zeitspanne bis zum Erreichen einer 2 mm-Amplitude definiert (siehe Abbildung 2.3).

Für die Messungen werden 300  $\mu$ l Citrat- oder Nativblut mittels einer halbautomatischen Pipette in Einweg-Küvetten pipettiert. Die Verwendung von Citratblut wird aufgrund der besseren Standardisierung und der Praktikabilität vom Hersteller empfohlen, vor der Messung wird in diesem Fall die Blutprobe durch Zugabe von 20  $\mu$ l Calciumchlorid recalcifiziert. Für eine Standardisierung des *in vitro*-Gerinnungsprozesses und eine Beschleunigung der Analyse werden Aktivatoren hinzugegeben, so dass innerhalb weniger Minuten eine weitgehende Aussage über den Gerinnungsstatus möglich ist. Die typische Laufzeit einer Thrombelastometriemessung beträgt 15 - 20 Minuten [79].

Sowohl für die Recalcifizierung als auch für die Gerinnungsaktivierung sind zertifizierte Testansätze kommerziell erhältlich [80], die nach Auswahl des entsprechenden Tests ebenfalls mittels halbautomatischer Pipette zu den Blutproben pipettiert werden. Eine gleichmäßige Durchmischung der Blutproben mit dem Calciumchlorid und dem Aktivator erfolgt wiederum mittels halbautomatischer Pipette [79].

In der Routine werden hauptsächlich fünf Tests eingesetzt: INTEM-, EXTEM-, und FIBTEM-Test als Screeningtests, HEPTM- und APTEM-Test für die Beurteilung einer Heparinwirkung bzw. Hyperfibrinolyse [80]. Im INTEM-Test erfolgt die Aktivierung primär mit Ellagsäure [10, 79]. Die Aktivierung im EXTEM-Test erfolgt mit Tissue Factor [10, 80] und entspricht so der physiologischen Gerinnungsaktivierung [132]. Der FIBTEM-Test wird zur Differenzierung von Thrombozyten- und Fibrinpolymerisationsdefekten bzw. zur Detektion eines Fibrinmangels eingesetzt [80]. Zusätzlich zur identischen Aktivierung wie im zum Vergleich hinzugezogenen INTEM- bzw. EXTEM-

Test wird bei dem FIBTEM-Test Cytochalasin D zur Thrombozyteninhibition zugegeben [42, 80], so dass das entstehende Gerinnsel auf die Fibrinpolymerisation zurückzuführen ist [80]. Für diese Studie wurden aufgrund der physiologischen Gerinnungsaktivierung der EXTEM- und FIBTEM-Test ausgewählt.

In die Auswertung wurden die Parameter CT, CFT und MCF des EXTEM-Tests sowie die MCF des FIBTEM-Tests eingeschlossen. Der thrombozytäre Einfluss auf die MCF ( $MCF_{Pit}$ ) wurde als Differenz aus der im EXTEM- und im FIBTEM-Test gemessenen MCF bestimmt:  $MCF_{Pit} = MCF_{EXTEM} - MCF_{FIBTEM}$  [80]. Tabelle 2.2 zeigt die in einer Multi-centerstudie ermittelten Referenzbereiche der EXTEM- und FIBTEM-Parameter [79].

Tabelle 2.2 – Referenzbereiche der verwendeten EXTEM- und FIBTEM-Parameter

<i>EXTEM: CT</i>	<i>EXTEM: CFT</i>	<i>EXTEM: MCF</i>	<i>FIBTEM: MCF</i>
42 - 74	46 - 148	49 - 71	9 – 25

Angegeben sind die geschlechtsunabhängigen Referenzbereiche für CT und CFT in s und für MCF in mm [79]. Verwendete Abkürzungen: Clotting Time (CT), Clot Formation Time (CFT), maximale Gerinnselfestigkeit (MCF).

Eine Hyperkoagulabilität wäre in der Thrombelastometrie in Analogie zu einer existenten Definition für die Thrombelastographie durch das Auftreten von zwei oder mehr der folgenden Veränderungen gekennzeichnet: Verkürzung der CT, Verkürzung der CFT, Vergrößerung der MCF und Vergrößerung des  $\alpha$ -Winkels. Eine Hypokoagulabilität hingegen wäre durch das Auftreten von zwei oder mehr der folgenden Abweichungen gekennzeichnet: Verlängerung der CT, Verlängerung der CFT, Verminderung der MCF und/oder Verkleinerung des  $\alpha$ -Winkels [72].

Für die Thrombelastometrie-Analysen standen am Standort Campus Charité Mitte drei *ROTEM® delta* (TEM Innovations GmbH, früher: Pentapharm GmbH, München, Deutschland) mit je vier Messkanälen im Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Pathobiochemie (ILP) der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Verfügung, so dass alle Messungen innerhalb des empfohlenen Zeitfensters von vier Stunden nach Blutentnahme [14] durchgeführt werden konnten.

Alle TEM-Tests wurden, wie vom Hersteller empfohlen, mit Citratblut und mit den vom Hersteller kommerziell erwerblichen Messzellen (Cup & Pin pro, TEM International GmbH, früher: Pentapharm GmbH, München, Deutschland), Pipettenspitzen (TIPTRAY Box eLine 10 – 320  $\mu$ l, TEM International GmbH) und den für den jeweiligen Test

benötigten Reagenzien (EXTEM-Test: star-TEM<sup>®</sup> und ex-TEM<sup>®</sup>; FIBTEM-Test: star-TEM<sup>®</sup>, ex-TEM<sup>®</sup> und fib-TEM<sup>®</sup>, TEM International GmbH, München, Deutschland) durchgeführt. Die Laufzeit betrug für alle Messungen 30 Minuten.

Im Rahmen der Qualitätssicherung wurde vor Studienbeginn, während der Studienlaufzeit und unmittelbar nach Studienende auf allen verwendeten Geräten und Kanälen der QCEXN-Test mit ROTROL N (TEM International GmbH, München, Deutschland) durchgeführt, eine Plausibilitäts- und Präzisionskontrolle der Systemperformance. Die Messergebnisse lagen vor und nach den Studienmessungen für jeden Kanal in den vom Hersteller angegebenen Referenzbereichen.

## **2.5 Statistische Auswertung**

Die Digitalisierung bzw. Verknüpfung der erhobenen und gemessenen Daten erfolgte mit dem Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft<sup>®</sup> Office Excel 2003 (Microsoft<sup>®</sup> Corporation, Redmond, Washington, USA), die statistischen Berechnungen und die Erstellung der Grafiken mit dem Statistikprogramm PASW Statistics, Versionen 17 und 18 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA, lizenziert für die Charité – Universitätsmedizin Berlin).

Bei Parametern mit blutgruppenabhängigen Referenzbereichen bzw. in der Literatur beschriebener Blutgruppenabhängigkeit wurden für eine bessere Vergleichbarkeit relative (rel) Werte eingeführt. Dazu wurden die absoluten Messwerte jeder einzelnen verdünnten Probe als Prozent bezogen auf die Messwerte der unverdünnten Kontrolle des jeweiligen Probanden, die mit 100 % festgelegt wurde, dargestellt.

Durch den Kolmogorov-Smirnov-Test wurde eine Normalverteilung für die meisten untersuchten Parameter ausgeschlossen. Aus diesem Grund wurden ausschließlich nichtparametrische Tests für die statistische Berechnung angewandt.

Intragruppenunterschiede wurden mit dem Friedman-Test, Intergruppenunterschiede mit dem Kruskal-Wallis-Test auf Signifikanz überprüft. Bei vorliegender Signifikanz im Friedman- bzw. Kruskal-Wallis-Test wurden Unterschiede zwischen den Dilutionen und der unverdünnten Kontrolle mit dem Wilcoxon-Test bzw. Unterschiede zwischen den Dilutionslösungen innerhalb einer Dilutionsstufe sowie Geschlechts- und Blutgruppenunterschiede mit dem Mann-Whitney-U-Test auf Signifikanz überprüft. Die statistische Überprüfung auf signifikante Geschlechtsunterschiede getrennt nach

Blutgruppe für Parameter mit blutgruppenabhängigen Referenzbereichen wurde aufgrund der geringen Fallzahl nicht durchgeführt.

Die Ergebnisse werden tabellarisch als Median (Minimum - Maximum) angegeben, die Thrombelastometrie-Parameter der Dilutionen werden als Box-and-Whisker-Plots (Minimum, erste Quartile, Median, dritte Quartile und Maximum) dargestellt.

Es handelt sich um eine rein explorative Arbeit zur Hypothesengenerierung, so dass auf eine Korrektur für multiples Testen verzichtet wurde. Ein zweiseitiges  $p < 0,05$  wurde als signifikant angenommen.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Probandencharakteristika

Nach Berücksichtigung der Ein- und Ausschlusskriterien, mündlicher und schriftlicher Aufklärung sowie schriftlicher Einverständniserklärung wurden insgesamt zehn Probanden, fünf Männer und fünf Frauen, in diese Studie eingeschlossen. Die Probanden waren zum Studienzeitpunkt im Median 27,5 Jahre alt, der BMI betrug im Median 22,2 kg/m<sup>2</sup>. Vier der Probanden hatten Blutgruppe 0, sechs Blutgruppe A, wobei die Verteilung innerhalb der Geschlechter identisch ist. Die Probandencharakteristika sind in Tabelle 3.1 vergleichend dargestellt. Signifikante Geschlechtsunterschiede bestehen nur im Alter; die Frauen sind signifikant jünger ( $p = 0,016$ ).

Tabelle 3.1 – Probandencharakteristika

	<i>gesamt</i>	<i>männlich</i>	<i>weiblich</i>	<i>p<sub>Geschlecht</sub></i>
<i>Anzahl Probanden (%)</i>	10 (100)	5 (50)	5 (50)	n.a.
<i>Alter [Jahre]</i>	27,5 (23 - 45)	37 (27 - 45)	23 (23 - 28)	<b>0,016</b>
<i>BMI [kg/m<sup>2</sup>]</i>	22,2 (19,8 - 28,4)	25,7 (20,8 - 28,4)	22,0 (19,8 - 25,8)	0,310
<i>Blutgruppe</i>				
<i>BG 0 (%)</i>	4 (40)	2 (20)	2 (20)	n.a.
<i>BG A (%)</i>	6 (60)	3 (30)	3 (30)	n.a.

Die Ergebnisse sind als Median (Minimum - Maximum) bzw. als  $n$  und Prozent der Gesamtheit angegeben. Verwendete Abkürzungen: Body Mass Index (BMI), Blutgruppe (BG), nicht anwendbar (n.a.).

Die Baseline-Werte für Hämatokrit, Thrombozyten, ionisiertes Calcium, Faktor VIII und Quick-Wert liegen bei allen Probanden in den entsprechenden Referenzbereichen (siehe Tabelle 3.2).

Die aPTT liegt bei zwei Probanden mit 38 Sekunden knapp außerhalb des vom Labor angegebenen oberen Referenzwertes von 37 Sekunden. Bei je einem Probanden sind die Werte für vWF:CBA bzw. vWF-Antigen und vWF-Aktivität in der Baseline-Messung erhöht. Die Baseline-Werte der Laborparameter sind sowohl für die Probandengesamtheit als auch für Männer und Frauen getrennt in Tabelle 3.2 vergleichend dargestellt. Signifikante Geschlechtsunterschiede bestehen ausschließlich bezüglich des Hämatokrits ( $p = 0,008$ ), der bei Frauen physiologisch niedriger ist.

Tabelle 3.2 – Laborparameter in den Baseline-Messungen

	<b>gesamt</b>	<b>männlich</b>	<b>weiblich</b>	<b>p<sub>Geschlecht</sub></b>
Hämatokrit [l/l]	0,42 (0,38 - 0,44)	0,43 (0,43 - 0,44)	0,40 (0,38 - 0,40)	<b>0,008</b>
Thrombozyten [/nl]	231 (178 - 356)	194 (181 - 356)	267 (178 - 286)	0,841
ionisiertes Calcium [mmol/l]	1,21 (1,18 - 1,25)	1,23 (1,20 - 1,25)	1,20 (1,18 - 1,25)	0,151
Quick-Wert [%]	90 (81 - 105)	91 (87 - 105)	89 (81 - 93)	0,421
aPTT [s]	31,5 (27,0 - 38,0)	33,0 (27,0 - 38,0)	31,0 (31,0 - 33,0)	0,222
Faktor VIII [%]	62 (51 - 120)	62 (51 - 120)	61 (51 - 76)	0,421
vWF-Antigen [%]				
BG 0	89 (80 - 157)	120 (82 - 157)	88 (80 - 95)	n.a.
BG A	119 (89 - 156)	130 (128 - 156)	108 (89 - 109)	n.a.
vWF-Aktivität [%]				
BG 0	80 (73 - 144)	109 (73 - 144)	80 (76 - 84)	n.a.
BG A	100 (71 - 117)	110 (100 - 117)	97 (71 - 99)	n.a.
vWF:CBA [U/ml]	1,0 (0,6 - 1,4)	1,2 (0,7 - 1,4)	0,8 (0,6 - 1,0)	0,095

Hämatokrit und Thrombozytenzahl wurden aus dem EDTA-Blut, das ionisierte Calcium aus der Nativ-BGA bestimmt. Quick-Wert, aPTT, Faktor VIII, vWF-Antigen, vWF-Aktivität und vWF:CBA wurden aus den Plasmen der unverdünnten Kontrollen bestimmt. Die Ergebnisse sind als Median (Minimum - Maximum) angegeben. Verwendete Abkürzungen: aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT), Blutgruppe (BG), Collagenbindungsaktivität (CBA), nicht anwendbar (n.a.), Thromboplastinzeit (TPZ), von-Willebrand-Faktor (vWF). Für die Referenzbereiche siehe Kapitel *Probanden, Material und Methoden*.

In den Baseline-Messungen der unverdünnten Kontrollen liegen die Messwerte der Thrombelastometrie-Parameter Clotting Time (CT), Clot Formation Time (CFT) und maximale Gerinnsel- bzw. Clotfestigkeit (MCF) des EXTEM- und FIBTEM-Tests für alle Probanden innerhalb der Referenzbereiche. Signifikante Geschlechtsunterschiede bestehen nicht (siehe Tabelle 3.3).

Tabelle 3.3 – Thrombelastometrie-Parameter in den Baseline-Messungen

	<b>gesamt</b>	<b>männlich</b>	<b>weiblich</b>	<b>p<sub>Geschlecht</sub></b>
CT [s]	53,5 (50 - 69)	51 (50 - 69)	58 (52 - 66)	0,151
CFT [s]	87,5 (60 - 131)	105 (63 - 121)	80 (60 - 131)	0,841
MCF (EXTEM) [mm]	57,5 (53 - 67)	57 (54 - 67)	58 (53 - 63)	0,841
MCF (FIBTEM) [mm]	14 (10 - 19)	14 (10 - 17)	13 (12 - 19)	0,690

Die Ergebnisse sind als Median (Minimum - Maximum) angegeben. Verwendete Abkürzungen: Clotting Time (CT), Clot Formation Time (CFT), maximale Gerinnselfestigkeit (MCF). Für die Referenzbereiche siehe Kapitel *Probanden, Material und Methoden*.

### 3.2 Ergebnisse der Dilutionskontrolle

Im Rahmen der laboranalytischen Qualitätssicherung wurde als Dilutionskontrolle der Hämatokrit in allen hergestellten Dilutionen überprüft. Die Hämatokritwerte der unverdünnten Citratblut-Kontrollen dienten dabei als Referenzwerte. Wie in Tabelle 3.4 für alle Probanden einzeln und für die einzelnen Dilutionsstufen zusammen dargestellt

ist, wurde bei der 20%igen Dilutionsstufe im Median eine 19-prozentige, bei der 40%ige Dilutionsstufe eine 39-prozentige und bei der 60%ige Dilutionsstufe eine 60-prozentige Dilution erreicht.

Tabelle 3.4 – Dilutionskontrolle mit dem Hämatokrit-Wert

<i>Proband</i>	<i>unverdünnte Kontrolle</i>	<i>20%ige Dilutionen</i>	<i>40%ige Dilutionen</i>	<i>60%ige Dilutionen</i>
01	0 %	19 %	41 %	59 %
02	0 %	18 %	38 %	59 %
03	0 %	18 %	38 %	60 %
04	0 %	19 %	39 %	61 %
05	0 %	19 %	39 %	59 %
06	0 %	22 %	41 %	60 %
07	0 %	19 %	40 %	61 %
08	0 %	21 %	41 %	60 %
09	0 %	18 %	39 %	61 %
10	0 %	21 %	39 %	60 %
		19 (18 - 22)	39 (38 - 41)	60 (59 - 61)

Angegeben sind die Dilutionsgrade anhand der Hämatokritwerte der Dilutionen bezogen auf den Hämatokrit der unverdünnten Citratblut-Kontrolle, in der untersten Zeile der Median (Minimum - Maximum) in %.

### 3.3 Einfluss von HES-Konzentration, Trägerlösung bzw. Blutgruppe

Im Rahmen dieser Studie wird die HES-induzierte Koagulopathie in einem *in vitro*-Hämodilutionsmodell mittels der im Kapitel *Probanden, Material und Methoden* beschriebenen konventionellen Laborparameter und Thrombelastometrie untersucht.

Zur Beantwortung der formulierten Fragestellung, ob die HES-Konzentration und/oder die Zusammensetzung der Trägerlösung die Koagulopathie beeinflussen und wie sich die Ausprägung der HES-induzierten Koagulopathie in Abhängigkeit der Blutgruppe 0 bzw. Non-0 verhält, werden im Folgenden systematisch die Parameterveränderungen des plasmatischen Gerinnungssystems, des von-Willebrand-Systems und der Thrombelastometrie dargestellt.

Der Einfluss der HES-Konzentration wird durch die Gegenüberstellung der Ergebnisse der nicht-balancierten, iso- und hyperonkotischen (Kapitel 3.3.1) bzw. der Elektrolyt-balancierten, iso- und hyperonkotischen Lösungen (Kapitel 3.3.2) betrachtet, der Einfluss der Trägerlösung durch Gegenüberstellung der Ergebnisse der nicht-balancierten und Elektrolyt-balancierten HES-basierten Lösungen, getrennt für die isoonkotischen (Kapitel 3.3.3) bzw. hyperonkotischen (Kapitel 3.3.4) Dilutionslösungen.



In Kapitel 3.3.5 werden die absoluten und relativen Messwerte von Faktor VIII, vWF-Antigen, vWF-Aktivität und vWF:CBA unter Berücksichtigung der Blutgruppe 0 bzw. A verglichen.

### 3.3.1 Nicht-balancierte, iso- versus hyperonkotische HES-Lösungen

#### 3.3.1.1 Parameter der plasmatischen Gerinnung

Die konventionellen Gerinnungsparameter zeigen nach *in vitro*-Hämodilution mit beiden nicht-balancierten HES-Lösungen Anzeichen der Gerinnungsbeeinträchtigung:

**Quick-Wert und aPTT.** Als Ausdruck der beeinträchtigten Blutgerinnung ist mit steigender Dilution zunehmend ein Abfall des Quick-Werts sowie ein Anstieg der aPTT zu sehen. Die Verminderung des Quick-Werts ist bei beiden Präparationen bereits ab der 20-prozentigen Dilution verglichen mit der Baseline-Messung signifikant. Die aPTT ist bei Hämodilution mit der isoonkotischen HES-Lösung im Vergleich zu den Ausgangswerten ab der 40-prozentigen, bei Hämodilution mit der hyperonkotischen HES-Lösung erst in der 60-prozentigen Dilutionsstufe signifikant verlängert. Im Gegensatz zu dem generellen Trend der beeinträchtigten Blutgerinnung ist in der 20-prozentigen Dilution mit der hyperonkotischen Präparation die aPTT im Vergleich zur unverdünnten Kontrolle signifikant verkürzt (siehe Tabelle 3.5).

Der Quick-Wert- und die aPTT-Veränderungen der isoonkotischen HES-Lösungen sind im Trend bereits bei milder Hämodilution stärker ausgeprägt; der Unterschied ist für den Quick-Wert bei den Dilutionen ab 40 % ( $p_{40\%} = 0,043$ ,  $p_{60\%} = 0,002$ ) und für die aPTT in der 60-prozentigen Dilution ( $p = 0,019$ ) signifikant (siehe Tabelle 3.5).

**FVIII<sub>rel.</sub>** Die relativen Messwerte des Faktor VIII sind mit steigender Dilution zunehmend kleiner; diese Verminderung geht im Median mit Ausnahme der 20-prozentigen Dilution der hyperonkotischen Lösung über den reinen Dilutionsgrad hinaus. Verglichen mit der Baseline-Messung ist die Verminderung unabhängig von der HES-Konzentration bereits ab der 20-prozentigen Dilution signifikant (siehe Tabelle 3.5).

Signifikante Unterschiede zwischen den unterschiedlich konzentrierten HES-Lösungen bestehen in milder und moderater Hämodilution ( $p_{20\%} = 0,002$ ,  $p_{40\%} = 0,011$ ), in denen die relativen Messwerte des Faktor VIII in den Dilutionen der isoonkotischen HES-Lösung signifikant niedriger sind (siehe Tabelle 3.5).

Tabelle 3.5 – Konventionelle Gerinnungsparameter nach *in vitro*-Hämodilution mit nicht-balancierter, iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES

	<i>nicht-balancierte HES 6 %</i>	<i>nicht-balancierte HES 10 %</i>	<i>P</i> 6 % vs. 10 %		
<b>Quick-Wert [%]</b>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	90 (81 - 105)	n.a.	90 (81 - 105)	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	75 (69 - 87)	0,005	79 (69 - 92)	0,005	0,063
<i>40%ige Dilution</i>	54 (47 - 65)	0,005	59 (53 - 69)	0,005	<b>0,043</b>
<i>60%ige Dilution</i>	35 (26 - 40)	0,005	40 (35 - 45)	0,005	<b>0,002</b>
<b>aPTT [s]</b>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	31,5 (27,0 - 38,0)	n.a.	31,5 (27,0 - 38,0)	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	32,0 (29,0 - 36,0)	0,943	30,5 (28,0 - 36,0)	0,026	0,165
<i>40%ige Dilution</i>	36,5 (32,0 - 43,0)	0,011	33,5 (30,0 - 41,0)	0,210	0,063
<i>60%ige Dilution</i>	55,0 (48,0 - 83,0)	0,005	46,5 (41,0 - 60,0)	0,005	<b>0,019</b>
<b>Faktor VIII<sub>rel</sub> [%]</b>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	100	n.a.	100	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	74 (52 - 82)	0,005	85 (64 - 90)	0,005	<b>0,002</b>
<i>40%ige Dilution</i>	49 (35 - 53)	0,005	55 (45 - 60)	0,005	<b>0,011</b>
<i>60%ige Dilution</i>	31 (17 - 32)	0,005	30 (22 - 34)	0,005	0,436

Die Ergebnisse sind als Median (Minimum - Maximum) angegeben. Verwendete Abkürzungen: aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT), Hydroxyethylstärke (HES), nicht anwendbar (n.a.), relativ (rel), versus (vs.).

### 3.3.1.2 Thrombozytenzahl und von-Willebrand-Parameter

Für die Thrombozytenzahl und die Parameter des von-Willebrand-Systems, d.h. vWF-Antigen, vWF-Aktivität und vWF-Collagenbindungsaktivität (vWF:CBA), ist über die Probengesamtheit ebenfalls ein zunehmender Abfall der absoluten bzw. relativen Messwerte bei steigender Dilution nachweisbar (siehe Tabelle 3.6). Dieser Abfall ist für alle vier Parameter verglichen mit der der Baseline-Messung bei beiden Präparationen bereits ab der 20-prozentigen Dilution signifikant (siehe Tabelle 3.6).

**Thrombozytenzahl.** Der Abfall der Thrombozytenzahl unterscheidet sich zwischen den beiden unterschiedlichen konzentrierten nicht-balancierten HES-Präparationen nicht signifikant (siehe Tabelle 3.6).

**vWF-Antigen, vWF-Aktivität und vWF-Collagenbindungsaktivität.** Zwischen der nicht-balancierten 6- und 10-prozentigen HES-Lösung besteht lediglich für vWF:CBA in der 40-prozentigen Dilution ein signifikanter Unterschied ( $p = 0,023$ ) mit im Vergleich zur hyperonkotischen Lösung höheren Werten für die isoonkotische Dilutionslösung (siehe Tabelle 3.6).

Tabelle 3.6 – Thrombozytenzahl und vWF-Parameter nach *in vitro*-Hämodilution mit nicht-balancierter, iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES

	<i>nicht-balancierte HES 6 %</i>		<i>nicht-balancierte HES 10 %</i>		<i>P</i> 6 % vs. 10 %
<b>Thrombozyten [/<i>n</i>]</b>					
		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	128 (54 - 210)	n.a.	128 (54 - 210)	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	102 (34 - 154)	0,013	115 (38 - 152)	0,047	0,796
<i>40%ige Dilution</i>	96 (58 - 122)	0,012	87 (54 - 123)	0,015	0,971
<i>60%ige Dilution</i>	69 (48 - 93)	0,005	64 (43 - 87)	0,005	0,579
<b>vWF-Antigen<sub>rel</sub> [%]</b>					
		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	100	n.a.	100	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	69 (65 - 73)	0,005	71 (64 - 74)	0,005	0,739
<i>40%ige Dilution</i>	47 (41 - 51)	0,005	48 (41 - 51)	0,005	0,796
<i>60%ige Dilution</i>	28 (25 - 31)	0,005	29 (26 - 33)	0,005	0,739
<b>vWF-Aktivität<sub>rel</sub> [%]</b>					
		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	100	n.a.	100	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	71 (63 - 77)	0,005	70 (59 - 78)	0,005	0,631
<i>40%ige Dilution</i>	46 (40 - 56)	0,005	47 (39 - 53)	0,005	0,971
<i>60%ige Dilution</i>	29 (23 - 34)	0,005	26 (20 - 37)	0,005	0,247
<b>vWF:CBA<sub>rel</sub> [%]</b>					
		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	100	n.a.	100	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	73 (67 - 85)	0,005	76 (60 - 100)	0,008	0,796
<i>40%ige Dilution</i>	50 (40 - 57)	0,004	43 (38 - 56)	0,005	<b>0,023</b>
<i>60%ige Dilution</i>	27 (20 - 33)	0,005	23 (17 - 33)	0,005	0,247

Die Ergebnisse sind als Median (Minimum - Maximum) angegeben. Verwendete Abkürzungen: Collagenbindungsaktivität (CBA), Hydroxyethylstärke (HES), nicht anwendbar (n.a.), relativ (rel), versus (vs.), von-Willebrand-Faktor (vWF).

### 3.3.1.3 Abgeleitete Parameter aus der Thrombelastometrie

**CT und CFT.** In der Thrombelastometrie zeigt sich im EXTEM-Test bereits ab einer 20-prozentigen Dilution eine im Vergleich zur Baseline-Messung signifikante Verlängerung der Gerinnungszeit (CT) und Gerinnselbildungszeit (CFT). Die Verlängerung der CT und CFT ist für beide Präparationen auch in den Vergleichen 40-prozentige versus 20-prozentige und 60-prozentige versus 40-prozentige Dilution signifikant (siehe Tabellen 3.7 und 3.8).

In Hinblick auf die HES-Konzentration ist bereits bei milder Hämodilution der Trend zu beobachten, dass die höher konzentrierte, hyperonkotische HES-Lösung zu einer ausgeprägteren Verlängerung der CT und CFT führt. Signifikant ist der Unterschied ab der 40-prozentigen Dilution in der CT ( $p_{40\%} < 0,001$ ,  $p_{60\%} = 0,015$ ) und in der 60-prozentigen Dilution in der CFT ( $p = 0,001$ ) (siehe Abbildung 3.1).

Tabelle 3.7 – CT in Sekunden im EXTEM-Test nach *in vitro*-Hämodilution mit nicht-balancierter, iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES

	<b>nicht-balancierte HES 6 %</b>		<b>nicht-balancierte HES 10 %</b>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	53,5 (50 - 69)		53,5 (50 - 69)	
<i>20%ige Dilution</i>	73,0 (61 - 92)	$p_0 = 0,005$	87,0 (64 - 158)	$p_0 = 0,005$
<i>40%ige Dilution</i>	100,5 (87 - 125)	$p_0 = 0,005$ $p_{20} < 0,001$	131,0 (111 - 145)	$p_0 = 0,005$ $p_{20} = 0,003$
<i>60%ige Dilution</i>	179,5 (142 - 262)	$p_0 = 0,005$ $p_{40} < 0,001$	235,5 (154 - 306)	$p_0 = 0,005$ $p_{40} < 0,001$

Die Ergebnisse sind als Median (Minimum - Maximum) angegeben. Die dargestellten p-Werte beziehen sich auf den Vergleich mit der jeweils angegebenen Dilution, d.h.  $p_0$  ist der p-Wert bezogen auf die Baseline-Messung,  $p_{20}$  der p-Wert bezogen auf die 20%ige Dilution,  $p_{40}$  der p-Wert bezogen auf die 40%ige Dilution. Verwendete Abkürzung: Hydroxyethylstärke (HES).

Tabelle 3.8 – CFT in Sekunden im EXTEM-Test nach *in vitro*-Hämodilution mit nicht-balancierter, iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES

	<b>nicht-balancierte HES 6 %</b>		<b>nicht-balancierte HES 10 %</b>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	87,5 (60 - 131)		87,5 (60 - 131)	
<i>20%ige Dilution</i>	132,0 (105 - 197)	$p_0 = 0,005$	156,5 (123 - 230)	$p_0 = 0,005$
<i>40%ige Dilution</i>	213,5 (157 - 272)	$p_0 = 0,005$ $p_{20} < 0,001$	226,5 (175 - 348)	$p_0 = 0,005$ $p_{20} = 0,001$
<i>60%ige Dilution</i>	370,0 (319 - 555)	$p_0 = 0,005$ $p_{40} < 0,001$	627,0 (386 - 798)	$p_0 = 0,005$ $p_{40} < 0,001$

Die Ergebnisse sind als Median (Minimum - Maximum) angegeben. Die dargestellten p-Werte beziehen sich auf die jeweils angegebene Dilution. Verwendete Abkürzung: Hydroxyethylstärke (HES).

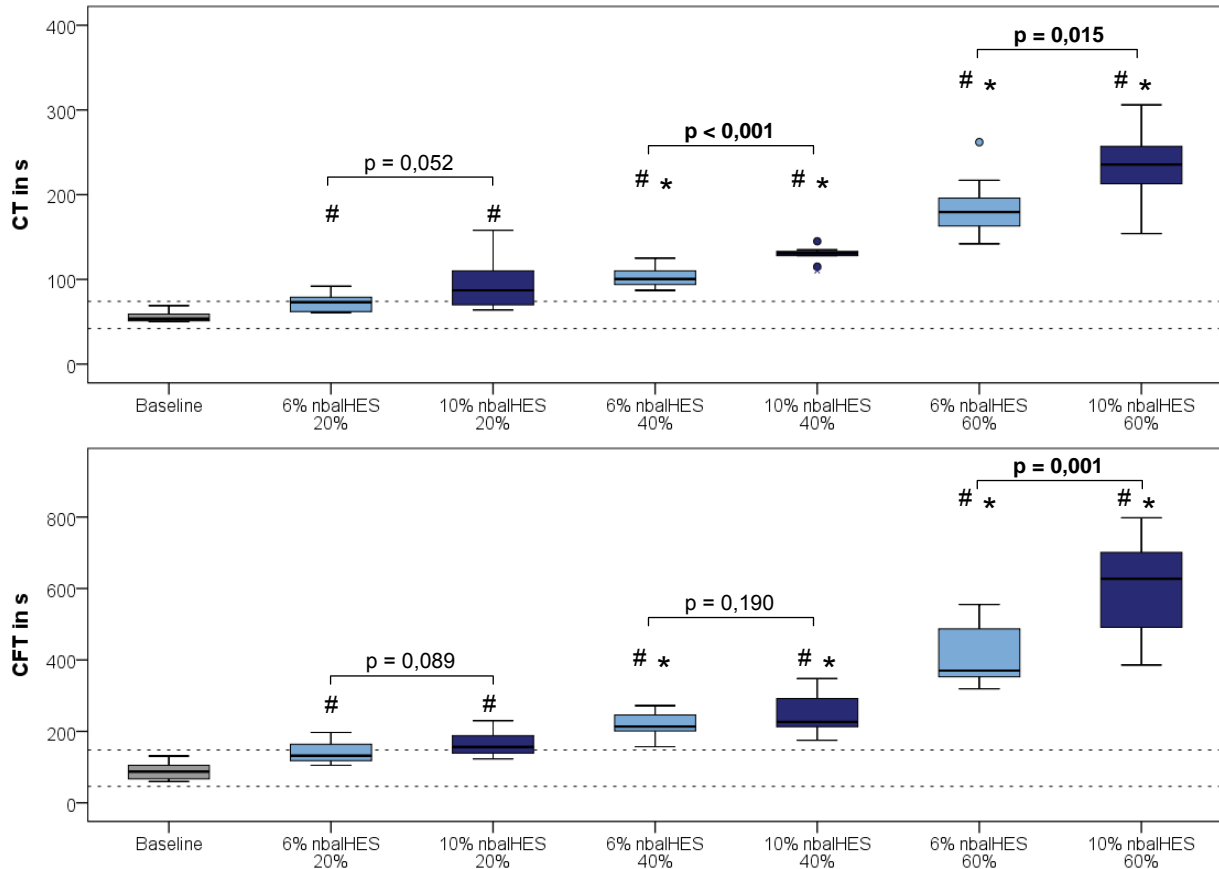


Abbildung 3.1 – CT und CFT in Sekunden im EXTEM-Test nach *in vitro*-Hämodilution mit nicht-balancierter (nbal), iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES

Box-and-Whisker-Plots (Minimum, erste Quartile, Median, dritte Quartile, Maximum). Gestrichelte Linien: Referenzbereich. # signifikanter Unterschied zur Baseline-Messung ( $p < 0,05$ ), \* signifikanter Unterschied zur niedrigeren Dilutionsstufe der gleichen HES-Präparation ( $p < 0,05$ ). Verwendete Abkürzungen: Clotting Time (CT), Clot Formation Time (CFT) Hydroxyethylstärke (HES), nicht-balanciert (nbal).

**MCF.** Die maximale Gerinnel- bzw. Clotfestigkeit (MCF) ist sowohl im EXTEM- als auch im FIBTEM-Test ab der 20-prozentigen Dilution im Vergleich zur Baseline-Messung signifikant vermindert. Die Verminderung der MCF ist für beide Präparationen in beiden Tests auch in den Vergleichen 40-prozentige versus 20-prozentige und 60-prozentige versus 40-prozentige Dilution signifikant (siehe Tabellen 3.9 und 3.10).

Die Berechnung des thrombozytären Anteils ( $MCF_{Pit}$ ) an der Gerinnselfestigkeit zeigt erst ab der 40-prozentigen Dilution eine signifikante Verminderung gegenüber dem für die Baseline-Messung berechneten Wert (siehe Tabelle 3.11).

Tabelle 3.9 – MCF in Millimeter im EXTEM-Test nach *in vitro*-Hämodilution mit nicht-balancierter, iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES

	<i>nicht-balancierte HES 6 %</i>		<i>nicht-balancierte HES 10 %</i>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	57,5 (53 - 67)		57,5 (53 - 67)	
<i>20%ige Dilution</i>	51,5 (46 - 58)	$p_0 = 0,005$	48,5 (42 - 59)	$p_0 = 0,007$
<i>40%ige Dilution</i>	43,0 (40 - 50)	$p_0 = 0,005$ $p_{20} < 0,001$	40,5 (37 - 47)	$p_0 = 0,005$ $p_{20} < 0,001$
<i>60%ige Dilution</i>	31,5 (25 - 38)	$p_0 = 0,005$ $p_{40} < 0,001$	27,0 (23 - 32)	$p_0 = 0,005$ $p_{40} < 0,001$

Die Ergebnisse sind als Median (Minimum - Maximum) angegeben. Die dargestellten p-Werte beziehen sich auf die jeweils angegebene Dilution. Verwendete Abkürzung: Hydroxyethylstärke (HES).

Tabelle 3.10 – MCF in Millimeter im FIBTEM-Test nach *in vitro*-Hämodilution mit nicht-balancierter, iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES

	<i>nicht-balancierte HES 6 %</i>		<i>nicht-balancierte HES 10 %</i>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	14,0 (10 - 19)		14,0 (10 - 19)	
<i>20%ige Dilution</i>	7,0 (5 - 11)	$p_0 = 0,005$	5,0 (3 - 6)	$p_0 = 0,004$
<i>40%ige Dilution</i>	3,5 (0 - 5)	$p_0 = 0,005$ $p_{20} < 0,001$	2,5 (0 - 3)	$p_0 = 0,005$ $p_{20} < 0,001$
<i>60%ige Dilution</i>	0,0 (0 - 3)	$p_0 = 0,005$ $p_{40} = 0,001$	0,0 (0 - 0)	$p_0 = 0,005$ $p_{40} = 0,023$

Die Ergebnisse sind als Median (Minimum - Maximum) angegeben. Die dargestellten p-Werte beziehen sich auf die jeweils angegebene Dilution. Verwendete Abkürzung: Hydroxyethylstärke (HES).

Tabelle 3.11 – MCF<sub>Plt</sub> in Millimeter nach *in vitro*-Hämodilution mit nicht-balancierter, iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES

	<i>nicht-balancierte HES 6 %</i>		<i>nicht-balancierte HES 10 %</i>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	44,0 (39 - 50)		44,0 (39 - 50)	
<i>20%ige Dilution</i>	44,0 (39 - 48)	$p_0 = 0,472$	44,5 (38 - 54)	$p_0 = 0,944$
<i>40%ige Dilution</i>	40,5 (37 - 45)	$p_0 = 0,032$ $p_{20} = 0,015$	39,0 (37 - 47)	$p_0 = 0,008$ $p_{20} = 0,007$
<i>60%ige Dilution</i>	31,5 (25 - 38)	$p_0 = 0,005$ $p_{40} < 0,001$	27,0 (23 - 32)	$p_0 = 0,005$ $p_{40} < 0,001$

Die Ergebnisse sind als Median (Minimum - Maximum) angegeben. Die dargestellten p-Werte beziehen sich auf den Vergleich mit der jeweils angegebenen Dilution. Verwendete Abkürzung: Hydroxyethylstärke (HES).

Hinsichtlich der HES-Konzentration zeigt sich im EXTEM-Test zwischen den beiden unterschiedlich konzentrierten, nicht-balancierten HES-Lösungen der Trend zu einer stärkeren Beeinträchtigung der MCF der mit hyperonkotischer HES-Lösung verdünnten Proben; Signifikanz erreicht der Unterschied erst in der 60-prozentigen Dilution ( $p = 0,009$ ) (siehe Abbildung 3.2).

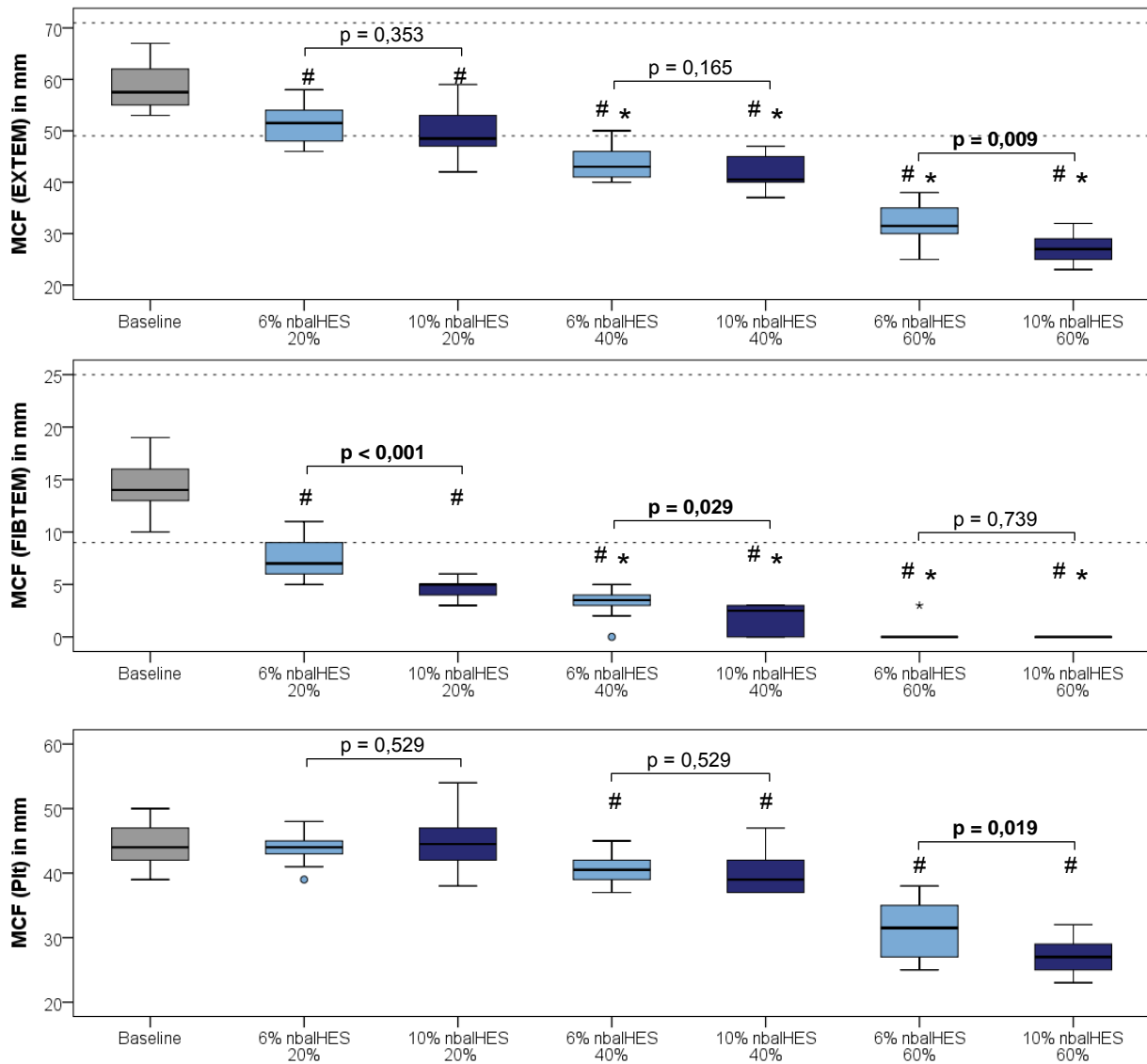


Abbildung 3.2 – MCF im EXTEM- und FIBTEM-Test und Darstellung des thrombozytären Anteils an der MCF (MCF<sub>Pit</sub>) in Millimeter nach *in vitro*-Hämodilution mit nicht-balancierter (nbal), iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES

Box-and-Whisker-Plots (Minimum, erste Quartile, Median, dritte Quartile, Maximum). Gestrichelte Linien: Referenzbereich. # signifikanter Unterschied zur Baseline-Messung ( $p < 0,05$ ), \* signifikanter Unterschied zur niedrigeren Dilutionsstufe der gleichen HES-Präparation ( $p < 0,05$ ). Verwendete Abkürzungen: Hydroxyethylstärke (HES), maximale Gerinnselfestigkeit (MCF), nicht-balanciert (nbal), Thrombozyten (Plt).

Das nach Thrombozyteninhibition entstandene Fibringerinnsel im FIBTEM-Test ist auch in der 20- und 40-prozentigen Dilution mit der höher konzentrierten Lösung signifikant weniger fest als mit der isoonkotischen Lösung ( $p_{20\%} < 0,001$ ,  $p_{40\%} = 0,029$ ). In der 60-prozentigen Dilution bildete sich im FIBTEM-Test mit beiden Präparationen kein Gerinnsel aus, so dass eine Aussage über den Einfluss der HES-Konzentration auf die Fibrinpolymerisation in dieser Dilutionsstufe nicht möglich ist (siehe Abbildung 3.2).

Die Berechnung des thrombozytären Anteils ( $MCF_{P_{lt}}$ ) an der Gerinnselfestigkeit zeigt in der 60-prozentigen Dilution einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Präparationen ( $p = 0,019$ ). Auch hier ist die hyperonkotische HES-Lösung mit einer stärkeren Beeinträchtigung assoziiert (siehe Abbildung 3.2).

### 3.3.1.4 Zusammenfassung

Die Ergebnisse der untersuchten konventionellen Laborparameter und der Thrombelastometrie zeigen für die *in vitro*-Hämodilution in den Dilutionsstufen 20 %, 40 % und 60 % mit nicht-balancierten HES-Präparationen (MW 130.000 Da, DS 0,4 bzw. 0,42) unabhängig von der HES-Konzentration eine dilutionsabhängige Beeinträchtigung der Blutgerinnung.

Gemessen mittels Quick-Wert, aPTT und Faktor VIII ist diese Beeinträchtigung dilutionsabhängig für die 6-prozentige Präparation stärker ausgeprägt. Nach moderater Hämodilution sind die relativen vWF:CBA-Werte für die 6-prozentige nicht-balancierte HES-Lösung höher. Bei den Parametern Thrombozytenzahl, vWF-Antigen oder vWF-Aktivität lässt sich kein Unterschied zwischen den beiden HES-Konzentrationen nachweisen. In der Thrombelastometrie dagegen lässt sich im EXTEM- und FIBTEM-Test eine dilutionsabhängig stärkere Ausprägung der Gerinnungsstörung nach Dilution mit der 10-prozentigen HES-Präparation beobachten.

## 3.3.2 Elektrolyt-balancierte, iso- versus hyperonkotische HES-Lösungen

### 3.3.2.1 Parameter der plasmatischen Gerinnung

Die konventionellen Gerinnungsparameter zeigen nach *in vitro*-Hämodilution mit Elektrolyt-balancierten HES-Lösungen ebenfalls mit steigender Dilution zunehmend Zeichen der gestörten Blutgerinnung, d.h. einen Abfall des Quick-Werts und der  $FVIII_{rel}$ -Werte sowie einen Anstieg der aPTT (siehe Tabelle 3.12).

**Quick-Wert und aPTT.** Die Verminderung des Quick-Werts ist bei beiden Präparationen bereits ab der 20-prozentigen Dilution im Vergleich zur Baseline-Messung signifikant. Bezogen auf die Werte der unverdünnten Kontrolle ist in der 20-prozentigen Dilution mit der hyperonkotischen Präparation die aPTT signifikant verkürzt, während für beide Präparationen in der 60-prozentigen Dilutionsstufe eine signifikante Verlängerung der aPTT nachweisbar ist (siehe Tabelle 3.12).



In Hinblick auf den Einfluss der HES-Konzentration sind die Veränderungen von Quick-Wert und aPTT im Fall der isotonischen HES-Lösung in milder und moderater Dilution im Trend stärker ausgeprägt. Dieser Unterschied ist für den Quick-Wert in der 40-prozentigen Dilution signifikant ( $p = 0,029$ ) (siehe Tabelle 3.12).

**FVIII<sub>rel.</sub>** Die relativen FVIII-Werte fallen für beide Präparationen im Median auf die durch die Dilution zu erwartenden Werte. Dieser Abfall ist unabhängig von der HES-Konzentration in allen Dilutionsstufen im Vergleich zur Baseline-Messung signifikant. Ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Elektrolyt-balancierten HES-Lösungen lässt sich dagegen nicht beobachten (siehe Tabelle 3.12).

Tabelle 3.12 – Konventionelle Gerinnungsparameter nach *in vitro*-Hämodilution mit Elektrolyt-balancierter, iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES

	<i>balancierte HES 6 %</i>		<i>balancierte HES 10 %</i>		<i>p</i> 6 % vs. 10 %
<b>Quick-Wert [%]</b>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	90 (81 - 105)	n.a.	90 (81 - 105)	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	80 (72 - 91)	0,007	82 (75 - 96)	0,005	0,123
<i>40%ige Dilution</i>	64 (58 - 78)	0,005	69 (62 - 89)	0,005	<b>0,029</b>
<i>60%ige Dilution</i>	46 (41 - 54)	0,005	46 (41 - 54)	0,005	0,853
<b>aPTT [s]</b>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	31,5 (27,0 - 38,0)	n.a.	31,5 (27,0 - 38,0)	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	31,5 (29,0 - 37,0)	0,251	30,5 (28,0 - 35,0)	0,026	0,579
<i>40%ige Dilution</i>	34,0 (30,0 - 41,0)	0,055	32,5 (30,0 - 38,0)	0,622	0,218
<i>60%ige Dilution</i>	46,0 (38,0 - 65,0)	0,005	46,5 (37,0 - 59,0)	0,005	0,912
<b>Faktor VIII<sub>rel.</sub> [%]</b>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	100	n.a.	100	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	79 (47 - 111)	0,009	81 (53 - 86)	0,005	0,796
<i>40%ige Dilution</i>	64 (41 - 71)	0,005	62 (39 - 69)	0,005	0,436
<i>60%ige Dilution</i>	39 (25 - 42)	0,005	39 (28 - 46)	0,005	0,853

Die Ergebnisse sind als Median (Minimum - Maximum) angegeben. Verwendete Abkürzungen: aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT), Hydroxyethylstärke (HES), nicht anwendbar (n.a.), relativ (rel), Thromboplastinzeit (Quick), versus (vs.).

### 3.3.2.2 Thrombozytenzahl und von-Willebrand-Parameter

Für die Thrombozytenzahl und die Parameter des von-Willebrand-Systems ist über die Probengesamtheit ebenfalls ein zunehmender Abfall der Messwerte bei steigender Dilution nachweisbar. Dieser Abfall ist für beide Präparationen ab der 40-prozentigen Dilution für die Thrombozytenzahl, für die vWF-Parameter in allen Dilutionsstufen im Vergleich zur Baseline-Messung signifikant (siehe Tabelle 3.13).

Für die vWF-Aktivität lässt sich ein signifikanter Unterschied zwischen den unterschiedlich konzentrierten HES-Lösungen mit einem höheren Wert für die isoonkotische Präparation nach 60-prozentiger *in vitro*-Hämodilution nachweisen ( $p = 0,002$ ). Keine Unterschiede bestehen hinsichtlich vWF-Antigen oder vWF-Collagenbindungsaktivität. In Tabelle 3.13 sind die absoluten Messwerte für die Thrombozytenzahl und die relativen für die vWF-Parameter mit Angabe der  $p$ -Werte des Unterschieds zwischen den beiden Elektrolyt-balancierten Lösungen dargestellt.

Tabelle 3.13 – Thrombozytenzahl und vWF-Parameter nach *in vitro*-Hämodilution mit Elektrolyt-balancierter, iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES

	<i>balancierte HES 6 %</i>		<i>balancierte HES 10 %</i>		$p$ 6 % vs. 10 %
<b>Thrombozyten [n]</b>		$p_{Baseline}$		$p_{Baseline}$	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	128 (54 - 210)	n.a.	128 (54 - 210)	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	116 (68 - 164)	0,285	119 (61 - 160)	0,126	0,912
<i>40%ige Dilution</i>	96 (39 - 137)	0,013	106 (70 - 135)	0,037	0,739
<i>60%ige Dilution</i>	70 (49 - 99)	0,005	68 (47 - 92)	0,005	0,529
<b>vWF-Antigen<sub>rel</sub> [%]</b>		$p_{Baseline}$		$p_{Baseline}$	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	100	n.a.	100	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	70 (58 - 85)	0,005	73 (69 - 75)	0,005	0,190
<i>40%ige Dilution</i>	49 (43 - 51)	0,005	49 (41 - 53)	0,005	0,796
<i>60%ige Dilution</i>	29 (28 - 31)	0,005	28 (25 - 31)	0,005	0,165
<b>vWF-Aktivität<sub>rel</sub> [%]</b>		$p_{Baseline}$		$p_{Baseline}$	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	100	n.a.	100	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	70 (66 - 96)	0,005	73 (67 - 79)	0,005	0,481
<i>40%ige Dilution</i>	49 (44 - 56)	0,005	47 (38 - 55)	0,005	0,315
<i>60%ige Dilution</i>	33 (22 - 36)	0,005	26 (18 - 32)	0,005	<b>0,002</b>
<b>vWF:CBA<sub>rel</sub> [%]</b>		$p_{Baseline}$		$p_{Baseline}$	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	100	n.a.	100	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	71 (57 - 83)	0,005	71 (60 - 86)	0,005	0,631
<i>40%ige Dilution</i>	43 (38 - 50)	0,005	41 (33 - 44)	0,005	0,247
<i>60%ige Dilution</i>	24 (17 - 30)	0,005	21 (14 - 29)	0,005	0,105

Die Ergebnisse sind als Median (Minimum - Maximum) angegeben. Verwendete Abkürzungen: Collagenbindungsaktivität (CBA), Hydroxyethylstärke (HES), nicht anwendbar (n.a.), relativ (rel), versus (vs.), von-Willebrand-Faktor (vWF).

### 3.3.2.3 Abgeleitete Parameter aus der Thrombelastometrie

**CT und CFT.** In der Thrombelastometrie zeigt sich im EXTEM-Test bereits ab einer 20-prozentigen Dilution eine im Vergleich zur Baseline-Messung signifikante Verlängerung der CT und CFT. Die Verlängerung der CT und CFT ist für beide Präparationen auch in den Vergleichen 40- versus 20-prozentige und 60- versus 40-prozentige Dilution signifikant (siehe Tabellen 3.14 und 3.15).

Tabelle 3.14 – CT in Sekunden im EXTEM-Test nach *in vitro*-Hämodilution mit Elektrolyt-balancierter, iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES

	Elektrolyt-balancierte HES 6 %		Elektrolyt-balancierte HES 10 %	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	53,5 (50 - 69)		53,5 (50 - 69)	
<i>20%ige Dilution</i>	72,5 (61 - 97)	$p_0 = 0,005$	80,5 (67 - 91)	$p_0 = 0,005$
<i>40%ige Dilution</i>	111,0 (76 - 123)	$p_0 = 0,005$ $p_{20} < 0,001$	117,5 (99 - 169)	$p_0 = 0,005$ $p_{20} < 0,001$
<i>60%ige Dilution</i>	165,5 (146 - 205)	$p_0 = 0,005$ $p_{40} < 0,001$	216,5 (178 - 249)	$p_0 = 0,005$ $p_{40} < 0,001$

Die Ergebnisse sind als Median (Minimum - Maximum) angegeben. Die dargestellten p-Werte beziehen sich auf den Vergleich mit der jeweils angegebenen Dilution, d.h.  $p_0$  ist der p-Wert bezogen auf die Baseline-Messung,  $p_{20}$  der p-Wert bezogen auf die 20%ige Dilution,  $p_{40}$  der p-Wert bezogen auf die 40%ige Dilution. Verwendete Abkürzung: Hydroxyethylstärke (HES).

Tabelle 3.15 – CFT in Sekunden im EXTEM-Test nach *in vitro*-Hämodilution mit Elektrolyt-balancierter, iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES

	Elektrolyt-balancierte HES 6 %		Elektrolyt-balancierte HES 10 %	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	87,5 (60 - 131)		87,5 (60 - 131)	
<i>20%ige Dilution</i>	131,5 (110 - 195)	$p_0 = 0,005$	144,5 (107 - 201)	$p_0 = 0,005$
<i>40%ige Dilution</i>	205,0 (156 - 319)	$p_0 = 0,005$ $p_{20} < 0,001$	227,5 (174 - 341)	$p_0 = 0,005$ $p_{20} < 0,001$
<i>60%ige Dilution</i>	396,5 (33 - 567)	$p_0 = 0,007$ $p_{40} = 0,002$	517,0 (355 - 692)	$p_0 = 0,005$ $p_{40} < 0,001$

Die Ergebnisse sind als Median (Minimum - Maximum) angegeben. Die dargestellten p-Werte beziehen sich auf den Vergleich mit der jeweils angegebenen Dilution. Verwendete Abkürzung: Hydroxyethylstärke (HES).

In Hinblick auf die HES-Konzentration ist bei den Elektrolyt-balancierten HES-Präparationen erst bei schwerer, d.h. 60-prozentiger, *in vitro*-Hämodilution der Trend einer ausgeprägteren Verlängerung der CT und CFT für die höher konzentrierte, hyperonkotische HES-Lösung zu beobachten. Diese Verlängerung ist in der CT in der 60-prozentigen Dilution signifikant ( $p = 0,002$ ) (siehe Abbildung 3.3).

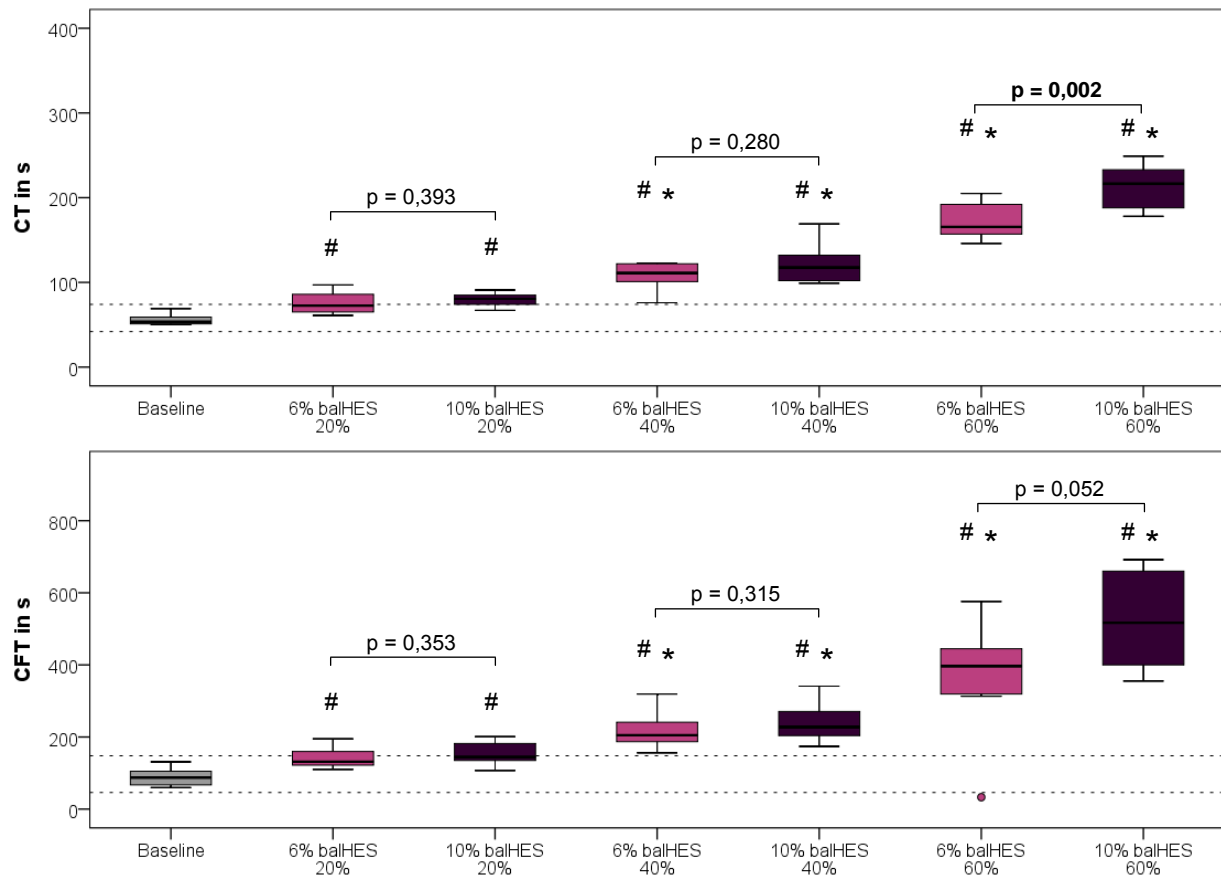


Abbildung 3.3 – CT und CFT in Sekunden im EXTEM-Test nach *in vitro*-Hämodilution mit Elektrolyt-balancierter (bal), iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES

Box-and-Whisker-Plots (Minimum, erste Quartile, Median, dritte Quartile, Maximum). Gestrichelte Linien: Referenzbereich. # signifikanter Unterschied zur Baseline-Messung ( $p < 0,05$ ), \* signifikanter Unterschied zur niedrigeren Dilutionsstufe der gleichen HES-Präparation ( $p < 0,05$ ). Verwendete Abkürzungen: Elektrolyt-balanciert (bal), Clotting Time (CT), Clot Formation Time (CFT), Hydroxyethylstärke (HES).

**MCF.** Die maximale Clotfestigkeit (MCF) ist sowohl im EXTEM- als auch im FIBTEM-Test ab der 20-prozentigen Dilution im Vergleich zur Baseline-Messung signifikant vermindert (siehe Tabellen 3.16 und 3.17).

Die Verminderung der MCF im EXTEM-Test ist für beide Präparationen auch in den Vergleichen 40- versus 20-prozentige und 60- versus 40-prozentige Dilution signifikant unterschiedlich. Die Verminderung der MCF im FIBTEM-Test ist für beide Präparationen im Vergleich 40- versus 20-prozentige Dilution und für die isoonkotische auch im Vergleich 60- versus 40-prozentige Dilution signifikant. Der Median der MCF im FIBTEM-Test in der 40-prozentigen Dilution mit der hyperonkotischen Elektrolyt-balancierten HES liegt bereits bei 0 mm; eine signifikante Verminderung bei weiterer Dilution ist nicht möglich (siehe Tabellen 3.16 und 3.17).

Tabelle 3.16 – MCF in Millimeter im EXTEM-Test nach *in vitro*-Hämodilution mit Elektrolyt-balancierter, iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES

	<b>Elektrolyt-balancierte HES 6 %</b>		<b>Elektrolyt-balancierte HES 10 %</b>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	57,5 (53 - 67)		57,5 (53 - 67)	
<i>20%ige Dilution</i>	50,5 (46 - 57)	$p_0 = 0,005$	48,0 (46 - 56)	$p_0 = 0,005$
<i>40%ige Dilution</i>	41,0 (35 - 47)	$p_0 = 0,005$ $p_{20} < 0,001$	42,0 (37 - 47)	$p_0 = 0,005$ $p_{20} < 0,001$
<i>60%ige Dilution</i>	30,0 (26 - 35)	$p_0 = 0,005$ $p_{40} < 0,001$	27,0 (23 - 33)	$p_0 = 0,005$ $p_{40} < 0,001$

Die Ergebnisse sind als Median (Minimum - Maximum) angegeben. Die dargestellten p-Werte beziehen sich auf die jeweils angegebene Dilution. Verwendete Abkürzung: Hydroxyethylstärke (HES).

Tabelle 3.17 – MCF in Millimeter im FIBTEM-Test nach *in vitro*-Hämodilution mit Elektrolyt-balancierter, iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES

	<b>Elektrolyt-balancierte HES 6 %</b>		<b>Elektrolyt-balancierte HES 10 %</b>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	14,0 (10 - 19)		14,0 (10 - 19)	
<i>20%ige Dilution</i>	6,5 (4 - 9)	$p_0 = 0,005$	4,5 (3 - 6)	$p_0 = 0,005$
<i>40%ige Dilution</i>	3,0 (2 - 4)	$p_0 = 0,005$ $p_{20} < 0,001$	0,0 (0 - 3)	$p_0 = 0,005$ $p_{20} < 0,001$
<i>60%ige Dilution</i>	0,0 (0 - 2)	$p_0 = 0,005$ $p_{40} < 0,001$	0,0 (0 - 0)	$p_0 = 0,005$ $p_{40} = 0,143$

Die Ergebnisse sind als Median (Minimum - Maximum) angegeben. Die dargestellten p-Werte beziehen sich auf die jeweils angegebene Dilution. Verwendete Abkürzung: Hydroxyethylstärke (HES).

Die Berechnung des thrombozytären Anteils ( $MCF_{Pit}$ ) an der Gerinnselfestigkeit zeigt für die niedriger konzentrierte, isoonkotische Präparation sowohl in der 40-prozentigen als auch in der 60-prozentigen Dilution eine signifikante Verminderung gegenüber der Baseline-Messung. Für die hyperonkotische Präparation ist der thrombozytäre Anteil der MCF erst in der 60-prozentigen Dilution gegenüber der Baseline-Messung signifikant vermindert (siehe Tabelle 3.18).

Tabelle 3.18 –  $MCF_{Pit}$  in Millimeter nach *in vitro*-Hämodilution mit Elektrolyt-balancierter, iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES

	<b>Elektrolyt-balancierte HES 6 %</b>		<b>Elektrolyt-balancierte HES 10 %</b>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	44,0 (39 - 50)		44,0 (39 - 50)	
<i>20%ige Dilution</i>	44,0 (39 - 48)	$p_0 = 0,751$	44,5 (42 - 50)	$p_0 = 0,395$
<i>40%ige Dilution</i>	38,5 (33 - 43)	$p_0 = 0,005$ $p_{20} < 0,001$	41,0 (37 - 45)	$p_0 = 0,057$ $p_{20} = 0,019$
<i>60%ige Dilution</i>	29,5 (24 - 35)	$p_0 = 0,005$ $p_{40} < 0,001$	27,0 (23 - 33)	$p_0 = 0,005$ $p_{40} < 0,001$

Die Ergebnisse sind als Median (Minimum - Maximum) angegeben. Die dargestellten p-Werte beziehen sich auf die jeweils angegebene Dilution. Verwendete Abkürzung: Hydroxyethylstärke (HES).

In Hinblick auf den Einfluss der HES-Konzentration zeigen sich in der MCF im EXTEM-Test und für den thrombozytären Anteil der MCF zwischen den beiden unterschiedlich konzentrierten Elektrolyt-balancierten HES-Lösungen keine signifikanten Unterschiede in der Ausprägung der Gerinnungsstörung, im FIBTEM-Test dagegen in der 20- und 40-prozentigen Dilutionsstufe signifikant niedrigere Werte für die hyperonkotische HES-Präparation ( $p_{20\%} = 0,007$ ,  $p_{40\%} = 0,023$ ) (siehe Abbildung 3.4).

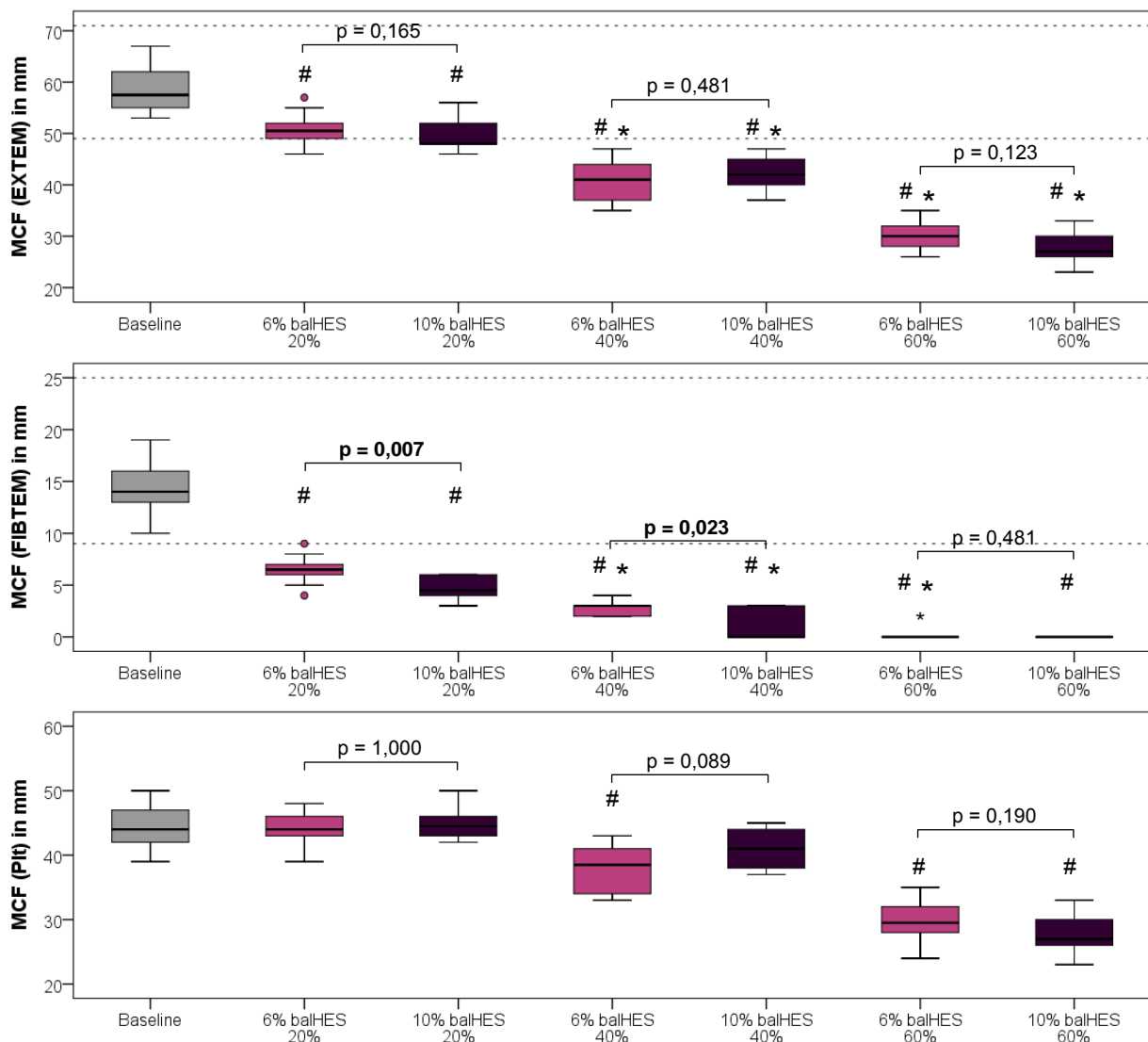


Abbildung 3.4 – MCF im EXTEM- und FIBTEM-Test und Darstellung des thrombozytären Anteils an der MCF ( $MCF_{Pit}$ ) in Millimeter nach *in vitro*-Hämodilution mit Elektrolyt-balancierter (bal), iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES

Box-and-Whisker-Plots (Minimum, erste Quartile, Median, dritte Quartile, Maximum). Gestrichelte Linien: Referenzbereich. # signifikanter Unterschied zur Baseline-Messung ( $p < 0,05$ ), \* signifikanter Unterschied zur niedrigeren Dilutionsstufe der gleichen HES-Präparation ( $p < 0,05$ ). Verwendete Abkürzungen: Elektrolyt-balanciert (bal), Hydroxyethylstärke (HES), maximale Gerinnselfestigkeit (MCF), Thrombozyten (Pit).

In der 60-prozentigen Dilution bildete sich im FIBTEM-Test mit beiden Elektrolyt-balancierten Präparationen kein Gerinnsel aus, so dass eine Aussage über den Einfluss der HES-Konzentration auf die Fibrinpolymerisation in dieser Dilutionsstufe nicht möglich ist (siehe Abbildung 3.4).

#### **3.3.2.4 Zusammenfassung**

Die Ergebnisse der untersuchten konventionellen Laborparameter und der Thrombelastometrie zeigen für die *in vitro*-Hämodilution in den Dilutionsstufen 20 %, 40 % und 60 % mit Elektrolyt-balancierten HES-Präparationen (MW 130.000 Da, DS 0,42) unabhängig von der HES-Konzentration eine dilutionsabhängige Beeinträchtigung der Blutgerinnung.

Gemessen mittels Quick-Wert, aPTT und Faktor VIII unterscheiden sich die Effekte der 6- und der 10-prozentigen, Elektrolyt-balancierten HES nur im Quick-Wert in 40-prozentiger Dilution signifikant. Hinsichtlich des von-Willebrand-Systems sind dagegen nur die relativen vWF-Aktivität-Werte für die 6 % HES signifikant höher (60-prozentige Dilution).

In der Thrombelastometrie dagegen lässt sich im EXTEM- und FIBTEM-Test eine dilutionsabhängig stärkere Ausprägung der Gerinnungsstörung nach Dilution mit der 10-prozentigen HES-Präparation beobachten.

#### **3.3.3 Isoosmotische, nicht-balancierte vs. Elektrolyt-balancierte HES-Lösungen**

In den Kapiteln 3.3.1 und 3.3.2 werden die Ergebnisse einer aufsteigenden Hämodilution mit einer iso- versus hyperosmotischen Lösung mit identischer Trägerlösung dargestellt. In diesem Kapitel wird der Einfluss der Trägerlösung (nicht-balanciert versus Elektrolyt-balanciert) auf die HES-induzierte Koagulopathie von zwei isosmotischen HES-Lösungen (MW 130.000 Da, DS 0,4 bzw. 0,42) beschrieben.

##### **3.3.3.1 Parameter der plasmatischen Gerinnung**

Bei den Parametern der plasmatischen Gerinnung existieren signifikante Unterschiede zwischen der nicht-balancierten und der Elektrolyt-balancierten isosmotischen HES-Lösung (siehe Tabelle 3.19).

Tabelle 3.19 – Konventionelle Gerinnungsparameter nach *in vitro*-Hämodilution mit isoonkotischer (6 %), nicht-balancierter versus Elektrolyt-balancierter HES

	<i>nicht-balancierte HES 6 %</i>	<i>p<sub>Baseline</sub></i>	<i>balancierte HES 6 %</i>	<i>p<sub>Baseline</sub></i>	<i>p<sub>nbal vs. bal</sub></i>
<b>Quick-Wert [%]</b>					
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	90 (81 - 105)	n.a.	90 (81 - 105)	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	75 (69 - 87)	0,005	80 (72 - 91)	0,007	<b>0,043</b>
<i>40%ige Dilution</i>	54 (47 - 65)	0,005	64 (58 - 78)	0,005	<b>0,002</b>
<i>60%ige Dilution</i>	35 (26 - 40)	0,005	46 (41 - 54)	0,005	<b>&lt;0,001</b>
<b>aPTT [s]</b>					
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	31,5 (27,0 - 38,0)	n.a.	31,5 (27,0 - 38,0)	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	32,0 (29,0 - 36,0)	0,943	31,5 (29,0 - 37,0)	0,251	0,436
<i>40%ige Dilution</i>	36,5 (32,0 - 43,0)	0,011	34,0 (30,0 - 41,0)	0,055	0,123
<i>60%ige Dilution</i>	55,0 (48,0 - 83,0)	0,005	46,0 (38,0 - 65,0)	0,005	<b>0,015</b>
<b>Faktor VIII<sub>rel</sub> [%]</b>					
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	100	n.a.	100	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	74 (52 - 82)	0,005	79 (47 - 111)	0,009	0,052
<i>40%ige Dilution</i>	49 (35 - 53)	0,005	64 (41 - 71)	0,005	<b>0,001</b>
<i>60%ige Dilution</i>	31 (17 - 32)	0,005	39 (25 - 42)	0,005	<b>0,001</b>
<b>ionisiertes Calcium [mmol/l]</b>					
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	0,06 (0,05 - 0,07)	n.a.	0,06 (0,05 - 0,07)	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	0,05 (0,04 - 0,06)	0,003	0,07 (0,07 - 0,09)	0,004	<b>&lt;0,001</b>
<i>40%ige Dilution</i>	0,04 (0,03 - 0,05)	0,004	0,09 (0,08 - 0,10)	0,003	<b>&lt;0,001</b>
<i>60%ige Dilution</i>	0,03 (0,02 - 0,04)	0,004	0,11 (0,10 - 0,12)	0,004	<b>&lt;0,001</b>

Die Ergebnisse sind als Median (Minimum - Maximum) angegeben. Verwendete Abkürzungen: aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT), Elektrolyt-balanciert (bal), Hydroxyethylstärke (HES), nicht anwendbar (n.a.), nicht-balanciert (nbal), relativ (rel), versus (vs.).

**Quick-Wert und aPTT.** Der Quick-Wert ist in allen Dilutionsstufen im Fall der Elektrolyt-balancierten HES-Präparation signifikant weniger beeinträchtigt ( $p_{20\%} = 0,043$ ,  $p_{40\%} = 0,002$ ,  $p_{60\%} < 0,001$ ). Die aPTT ist in den Elektrolyt-balancierten Dilutionen in der 60-prozentigen Dilution signifikant weniger verlängert ( $p = 0,015$ ) (siehe Tabelle 3.19).

**FVIII<sub>rel</sub>.** Die FVIII<sub>rel</sub>-Werte der nicht-balancierten HES-Präparation sind in der 20-prozentigen Dilutionsstufe tendenziell ( $p = 0,052$ ), ab der 40-prozentigen Dilution signifikant niedriger als nach Dilution mit der Elektrolyt-balancierten Lösung gleicher HES-Konzentration ( $p_{40\%} < 0,001$ ,  $p_{60\%} < 0,001$ ) (siehe Tabelle 3.19).

**Ca<sup>2+</sup>.** Das vor Recalcifizierung gemessene ionisierte Calcium fällt mit steigender Dilution im Fall der nicht-balancierten Präparation zunehmend ab, während im Fall der



Elektrolyt-balancierten, calciumhaltigen Lösung die Werte mit zunehmender Dilution ansteigen. Der Unterschied zwischen den beiden isoonkotischen HES-Lösungen in unterschiedlichen Trägerlösungen ist in allen Dilutionsstufen signifikant ( $p < 0,001$ ) (siehe Tabelle 3.19).

### 3.3.3.2 Thrombozytenzahl und von-Willebrand-Parameter

Im Vergleich der Thrombozytenzahl und der von-Willebrand-Parameter vWF-Antigen, vWF-Aktivität und vWF-Collagenbindungsaktivität nach *in vitro*-Hämodilution mit nicht-balancierter bzw. Elektrolyt-balancierter 6-prozentiger HES-Lösung besteht zwischen den beiden Trägerlösungen ein signifikanter Unterschied ausschließlich hinsichtlich vWF:CBA in der moderaten Dilutionsstufe mit höheren Werten für die nicht-balancierte HES-Lösung ( $p = 0,003$ ) (siehe Tabelle 3.20).

Tabelle 3.20 – Thrombozytenzahl und vWF-Parameter nach *in vitro*-Hämodilution mit isoonkotischer (6 %), nicht-balancierter versus Elektrolyt-balancierter HES

	<i>nicht-balancierte HES 6 %</i>	<i>balancierte HES 6 %</i>	<i>P</i> <i>nbal vs. bal</i>		
<b>Thrombozyten [/<i>n</i>]</b>			<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	128 (54 - 210)	128 (54 - 210)	n.a.	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	102 (34 - 154)	116 (68 - 164)	0,013	0,285	0,280
<i>40%ige Dilution</i>	96 (58 - 122)	96 (39 - 137)	0,012	0,013	0,739
<i>60%ige Dilution</i>	69 (48 - 93)	70 (49 - 99)	0,005	0,005	0,853
<b>vWF-Antigen<sub>rel</sub> [%]</b>			<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	100	100	n.a.	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	69 (65 - 73)	70 (58 - 85)	0,005	0,005	0,631
<i>40%ige Dilution</i>	47 (41 - 51)	49 (43 - 51)	0,005	0,005	0,353
<i>60%ige Dilution</i>	28 (25 - 31)	29 (28 - 31)	0,005	0,005	0,579
<b>vWF-Aktivität<sub>rel</sub> [%]</b>			<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	100	100	n.a.	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	71 (63 - 77)	70 (66 - 96)	0,005	0,005	0,971
<i>40%ige Dilution</i>	46 (40 - 56)	49 (44 - 56)	0,005	0,005	0,123
<i>60%ige Dilution</i>	29 (23 - 34)	33 (22 - 36)	0,005	0,005	0,165
<b>vWF:CBA<sub>rel</sub> [%]</b>			<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	100	100	n.a.	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	73 (67 - 85)	71 (57 - 83)	0,005	0,005	0,190
<i>40%ige Dilution</i>	50 (40 - 57)	43 (38 - 50)	0,004	0,005	<b>0,003</b>
<i>60%ige Dilution</i>	27 (20 - 33)	24 (17 - 30)	0,005	0,005	0,315

Die Ergebnisse sind als Median (Minimum - Maximum) angegeben. Verwendete Abkürzungen: Elektrolyt-balanciert (bal), Collagenbindungsaktivität (CBA), Hydroxyethylstärke (HES), nicht anwendbar (n.a.), nicht-balanciert (nbal), relativ (rel), versus (vs.), von-Willebrand-Faktor (vWF).

### 3.3.3.3 Abgeleitete Parameter aus der Thrombelastometrie

**CT und CFT.** Im direkten Vergleich der nicht-balancierten versus Elektrolyt-balancierten 6-prozentigen HES-Lösung besteht kein Unterschied in der Ausprägung der Gerinnungsstörung (siehe Abbildung 3.5).

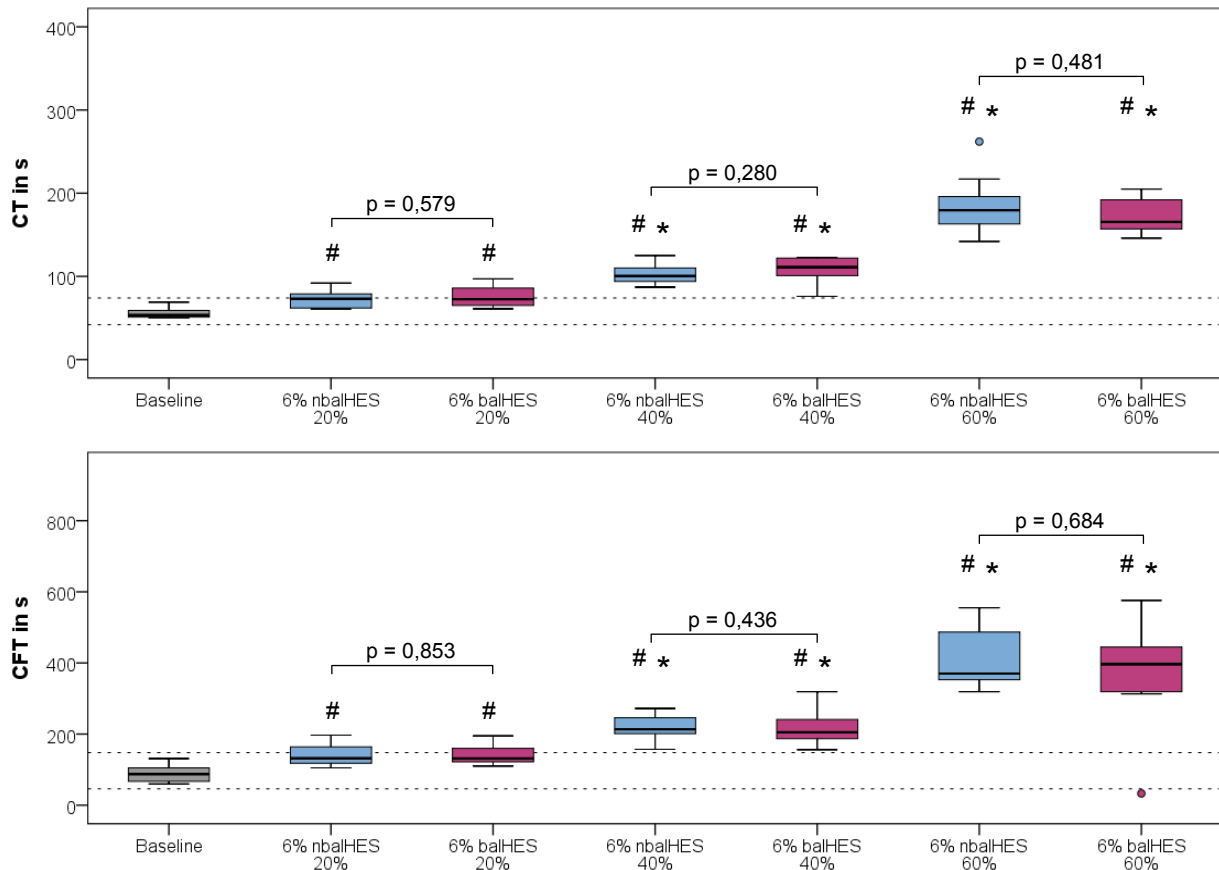


Abbildung 3.5 – CT und CFT in Sekunden im EXTEM-Test nach *in vitro*-Hämodilution mit isoonkotischer (6 %), nicht-balancierter (nbal) versus Elektrolyt-balancierter (bal) HES

Box-and-Whisker-Plots (Minimum, erste Quartile, Median, dritte Quartile, Maximum). Gestrichelte Linien: Referenzbereich. # signifikanter Unterschied zur Baseline-Messung (exakte *p*-Werte s. Tabellen 3.8-9 und 3.15-16), \* signifikanter Unterschied zur niedrigeren Dilutionsstufe der gleichen HES-Präparation (exakte *p*-Werte siehe Tabellen 3.8-9 und 3.15-16). Verwendete Abkürzungen: Elektrolyt-balanciert (bal), Clotting Time (CT), Clot Formation Time (CFT), Hydroxyethylstärke (HES), nicht-balanciert (nbal).

**MCF.** Auch in Hinblick auf die MCF besteht im direkten Vergleich der nicht-balancierten versus der Elektrolyt-balancierten 6-prozentigen HES-Lösungen kein Unterschied in der Ausprägung der verminderten Clotfestigkeit (siehe Abbildung 3.6).

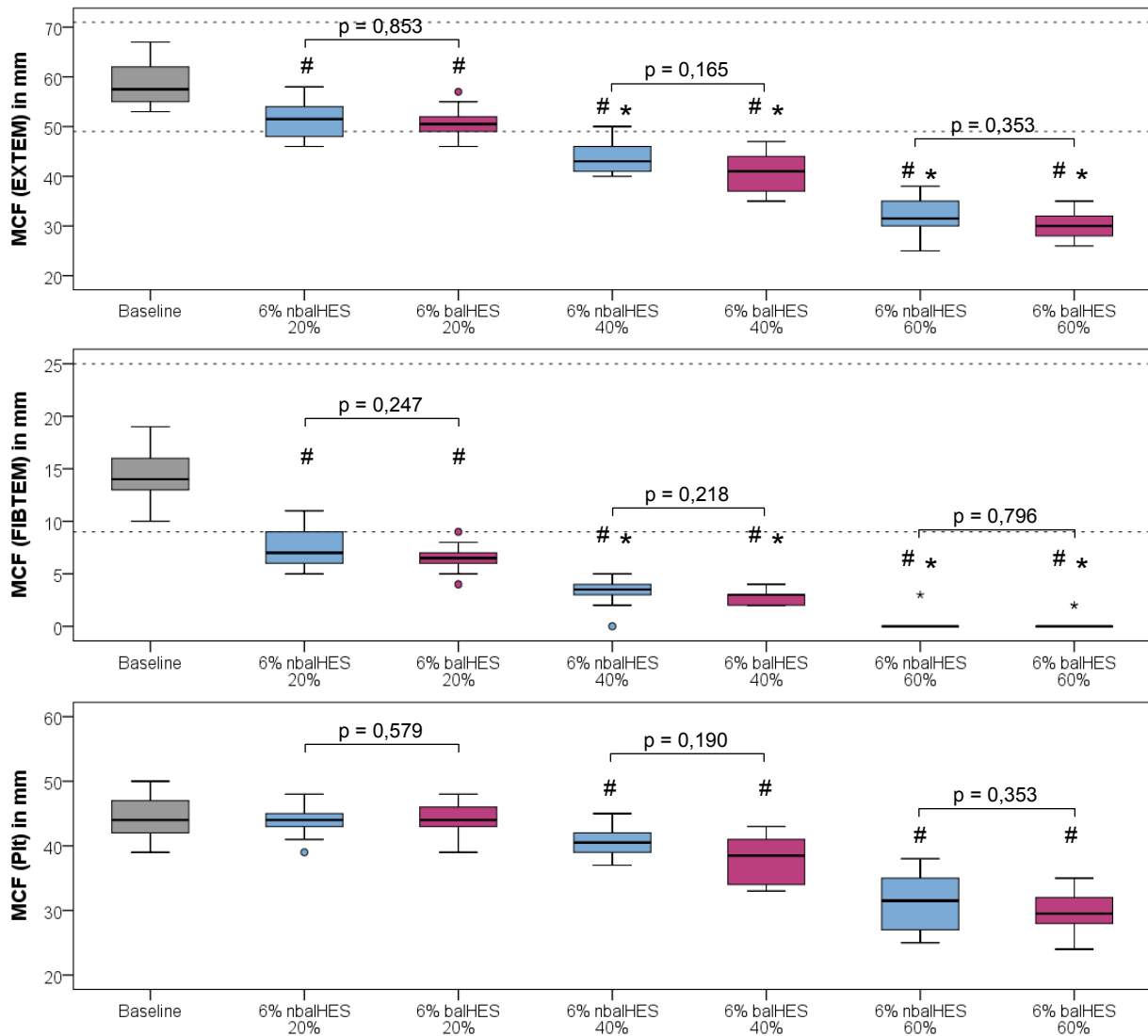


Abbildung 3.6 – MCF im EXTEM- und FIBTEM-Test und Darstellung des thrombozytären Anteils an der MCF (MCF<sub>Plt</sub>) in Millimeter nach *in vitro*-Hämodilution mit isoonkotischer (6 %), nicht-balancierter (nbal) versus Elektrolyt-balancierter (bal) HES

Box-and-Whisker-Plots (Minimum, erste Quartile, Median, dritte Quartile, Maximum). Gestrichelte Linien: Referenzbereich. # signifikanter Unterschied zur Baseline-Messung (exakte p-Werte s. Tabellen 3.10 - 12 und 3.17 - 19), \* signifikanter Unterschied zur niedrigeren Dilutionsstufe der gleichen HES-Präparation (exakte p-Werte s. Tabellen 3.10 - 12 und 3.17 - 19). Verwendete Abkürzungen: Elektrolyt-balanciert (bal), Hydroxyethylstärke (HES), maximale Gerinnselfestigkeit (MCF), nicht-balanciert (nbal), Thrombozyten (Plt).

### 3.3.3.4 Zusammenfassung

In den Dilutionen mit der Elektrolyt-balancierten 6-prozentigen HES-Lösung sind die Veränderungen von aPTT, Quick-Wert und Faktor VIII<sub>rel</sub> dilutionsabhängig signifikant weniger ausgeprägt als die vergleichbaren Dilutionen mit der nicht-balancierten 6-prozentigen HES. Die Spiegel des vor Recalcifizierung gemessenen ionisierten Calciums sind in allen Dilutionsstufen nach Dilution mit einer Elektrolyt-balancierten Lösung signifikant höher.

Die Parameter des von-Willebrand-Systems unterscheiden sich nur hinsichtlich vWF:CBA, die in der 40-prozentigen Dilution der nicht-balancierten 6-prozentigen HES-Lösung signifikant höher ist.

In der Thrombelastometrie lässt sich für die isoonkotischen HES-Lösungen durch Verwendung einer Elektrolyt-balancierten verglichen mit einer nicht-balancierten Trägerlösung kein Unterschied in der Ausprägung der HES-induzierten Koagulopathie nachweisen.

### **3.3.4 Hyperonkotische, nicht-balancierte versus Elektrolyt-balancierte HES-Lösungen**

In den Kapiteln 3.3.1 und 3.3.2 werden die Ergebnisse einer aufsteigenden Hämodilution mit einer iso- versus hyperonkotischen Lösung mit identischer Trägerlösung dargestellt, in Kapitel 3.3.3 der Einfluss der Trägerlösung auf die HES-induzierte Koagulopathie für zwei isoonkotische HES-Lösungen. In diesem Kapitel wird der Einfluss der Trägerlösung (nicht-balanciert versus Elektrolyt-balanciert) auf die HES-induzierte Koagulopathie für zwei hyperonkotischen HES-Lösungen (MW 130.000 Da, DS 0,42) beschrieben.

#### **3.3.4.1 Parameter der plasmatischen Gerinnung**

Im Vergleich der Trägerlösungen lassen sich bei den konventionellen Laborparametern nach *in vitro*-Hämodilution mit modernen, hyperonkotischen HES-Präparationen signifikante Unterschiede beobachten (siehe Tabelle 3.21).

**Quick-Wert und aPTT.** Der Quick-Wert ist im Fall der Elektrolyt-balancierten Trägerlösung in moderater und schwerer Dilution signifikant weniger beeinträchtigt ( $p_{40\%} < 0,001$ ,  $p_{60\%} = 0,002$ ). Die aPTT ist unabhängig von der Trägerlösung in der 20-prozentigen Dilutionsstufe bezogen auf die unverdünnte Kontrolle vergleichbar verkürzt ( $p_{nbal} = 0,026$ ,  $p_{bal} = 0,026$ ,  $p_{bal/nbal} = 0,853$ ) bzw. in der schweren Hämodilutionsstufe vergleichbar verlängert ( $p_{nbal} = 0,005$ ,  $p_{bal} = 0,005$ ,  $p_{bal/nbal} = 0,796$ ) (siehe Tabelle 3.21).

**FVIII<sub>rel</sub>.** Die FVIII<sub>rel</sub>-Werte der nicht-balancierten hyperonkotischen HES-Präparation sind ab der 40-prozentigen Dilution signifikant niedriger als nach Dilution mit der Elektrolyt-balancierten Lösung gleicher HES-Konzentration ( $p_{40\%} = 0,019$ ,  $p_{60\%} = 0,001$ ) (siehe Tabelle 3.21). Die Faktor VIII<sub>rel</sub>-Messwerte fallen nach Dilution mit

der nicht-balancierten Lösung im Gegensatz zu der Elektrolyt-balancierten Lösung ab der 40-prozentigen Dilution über den durch die reine Dilution zu erwartenden Grad ab.

Tabelle 3.21 – Konventionelle Gerinnungsparameter nach *in vitro*-Hämodilution mit hyperonkotischer (10 %), nicht-balancierter versus Elektrolyt-balancierter HES

	<i>nicht-balancierte HES 10 %</i>	<i>balancierte HES 10 %</i>	<i>p</i> <i>nbal vs. bal</i>	
<b>Quick-Wert [%]</b>			<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	<i>p</i> <sub>Baseline</sub>
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	90 (81 - 105)	90 (81 - 105)	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	79 (69 - 92)	82 (75 - 96)	0,005	0,123
<i>40%ige Dilution</i>	59 (53 - 69)	69 (62 - 89)	0,005	<b>&lt; 0,001</b>
<i>60%ige Dilution</i>	40 (35 - 45)	46 (41 - 54)	0,005	<b>0,002</b>
<b>aPTT [s]</b>			<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	<i>p</i> <sub>Baseline</sub>
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	31,5 (27,0 - 38,0)	31,5 (27,0 - 38,0)	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	30,5 (28,0 - 36,0)	30,5 (28,0 - 35,0)	0,026	0,853
<i>40%ige Dilution</i>	33,5 (30,0 - 41,0)	32,5 (30,0 - 38,0)	0,210	0,579
<i>60%ige Dilution</i>	46,5 (41,0 - 60,0)	46,5 (37,0 - 59,0)	0,005	0,796
<b>Faktor VIII<sub>rel</sub> [%]</b>			<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	<i>p</i> <sub>Baseline</sub>
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	100	100	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	85 (64 - 90)	81 (53 - 86)	0,005	0,247
<i>40%ige Dilution</i>	55 (45 - 60)	62 (39 - 69)	0,005	<b>0,019</b>
<i>60%ige Dilution</i>	30 (22 - 34)	39 (28 - 46)	0,005	<b>0,001</b>
<b>ionisiertes Calcium [mmol/l]</b>			<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	<i>p</i> <sub>Baseline</sub>
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	0,06 (0,05 - 0,07)	0,06 (0,05 - 0,07)	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	0,05 (0,04 - 0,06)	0,07 (0,07 - 0,09) #	0,002	0,004
<i>40%ige Dilution</i>	0,04 (0,03 - 0,05)	0,09 (0,08 - 0,10) #	0,004	<b>&lt; 0,001</b>
<i>60%ige Dilution</i>	0,03 (0,02 - 0,04)	0,11 (0,10 - 0,12) #	0,003	<b>&lt; 0,001</b>

Die Ergebnisse sind als Median (Minimum - Maximum) angegeben. Verwendete Abkürzungen: aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT), Elektrolyt-balanciert (bal), Hydroxyethylstärke (HES), nicht anwendbar (n.a.), nicht-balanciert (nbal), relativ (rel), versus (vs.).

**Ca<sup>2+</sup>**. Im Fall der nicht-balancierten Trägerlösung fallen die Werte mit steigender *in vitro*-Hämodilution zunehmend ab, während im Fall der Elektrolyt-balancierten Trägerlösung die Werte mit zunehmender Dilution ansteigen. Dieser Unterschied ist auch bei den hyperonkotischen HES-Präparationen in allen Dilutionsstufen mit  $p < 0,001$  signifikant (siehe Tabelle 3.21).

### 3.3.4.2 Thrombozytenzahl und von-Willebrand-Parameter

**Thrombozytenzahl.** Zwischen der nicht-balancierten und der Elektrolyt-balancierten 10-prozentigen HES-Präparation lässt sich kein signifikanter Unterschied für die Thrombozytenzahlen nach *in vitro*-Hämodilution beobachten (siehe Tabelle 3.22).

Tabelle 3.22 – Thrombozytenzahl und vWF-Parameter nach *in vitro*-Hämodilution mit hyperonkotischer (10 %), nicht-balancierter versus Elektrolyt-balancierter HES

	<i>nicht-balancierte HES 10 %</i>	<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	<i>balancierte HES 10 %</i>	<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	<i>P</i> <i>nbal vs. bal</i>
<b>Thrombozyten [/<i>n</i>]</b>					
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	128 (54 - 210)	n.a.	128 (54 - 210)	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	115 (38 - 152)	0,047	119 (61 - 160)	0,126	0,436
<i>40%ige Dilution</i>	87 (54 - 123)	0,015	106 (70 - 135)	0,037	0,218
<i>60%ige Dilution</i>	64 (43 - 87)	0,005	68 (47 - 92)	0,005	0,796
<b>vWF-Antigen<sub>rel</sub> [%]</b>					
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	100	n.a.	100	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	71 (64 - 74)	0,005	73 (69 - 75)	0,005	<b>0,015</b>
<i>40%ige Dilution</i>	48 (41 - 51)	0,005	49 (41 - 53)	0,005	0,481
<i>60%ige Dilution</i>	29 (26 - 33)	0,005	28 (25 - 31)	0,005	0,436
<b>vWF-Aktivität<sub>rel</sub> [%]</b>					
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	100	n.a.	100	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	70 (59 - 78)	0,005	73 (67 - 79)	0,005	0,165
<i>40%ige Dilution</i>	47 (39 - 53)	0,005	47 (38 - 55)	0,005	0,796
<i>60%ige Dilution</i>	26 (20 - 37)	0,005	26 (18 - 32)	0,005	0,739
<b>vWF:CBA<sub>rel</sub> [%]</b>					
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	100	n.a.	100	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	76 (60 - 100)	0,008	71 (60 - 86)	0,005	0,280
<i>40%ige Dilution</i>	43 (38 - 56)	0,005	41 (33 - 44)	0,005	0,075
<i>60%ige Dilution</i>	23 (17 - 33)	0,005	21 (14 - 29)	0,005	0,218

Die Ergebnisse sind als Median (Minimum - Maximum) angegeben. Verwendete Abkürzungen: Elektrolyt-balanciert (bal), Collagenbindungsaktivität (CBA), Hydroxyethylstärke (HES), nicht anwendbar (n.a.), nicht-balanciert (nbal), relativ (rel), versus (vs.), von-Willebrand-Faktor (vWF).

**vWF-Antigen, vWF-Aktivität und vWF-Collagenbindungsaktivität.** Bezogen auf die relativen Werte der untersuchten von-Willebrand-Parameter vWF-Antigen, vWF-Aktivität und vWF-Collagenbindungsaktivität ist zwischen der nicht-balancierten und Elektrolyt-balancierten Trägerlösung der verwendeten isoonkotischen HES-Lösung lediglich ein signifikanter Unterschied hinsichtlich des vWF-Antigens nach 20-prozentiger *in vitro*-Hämodilution zu beobachten. Für die relativen Werte von vWF-Aktivität oder vWF:CBA bestehen keine Unterschiede (siehe Tabelle 3.22).

Die vWF-Antigen<sub>rel</sub>-Werte sind nach milder Hämodilution mit der Elektrolyt-balancierten Lösung signifikant höher als die der nicht-balancierten Lösung ( $p = 0,015$ ). Dieser Unterschied lässt sich für die moderate und schwere Dilutionsstufe nicht mehr nachweisen ( $p_{40\%} = 0,481$ ,  $p_{60\%} = 0,436$ ) (siehe Tabelle 3.22).

### 3.3.4.3 Abgeleitete Parameter aus der Thrombelastometrie

**CT und CFT.** In der Thrombelastometrie ist im EXTEM-Test in Hinblick auf die Trägerlösung auch für die hyperonkotischen HES-Lösungen kein signifikanter Unterschied in der Ausprägung der Gerinnungsstörung nachweisbar. In Abbildung 3.10 sind die CT und CFT des EXTEM-Tests nach Hämodilution für beide Lösungen als Box-and-Whisker-Plots mit Angabe der exakten  $p$ -Werte gegenübergestellt.

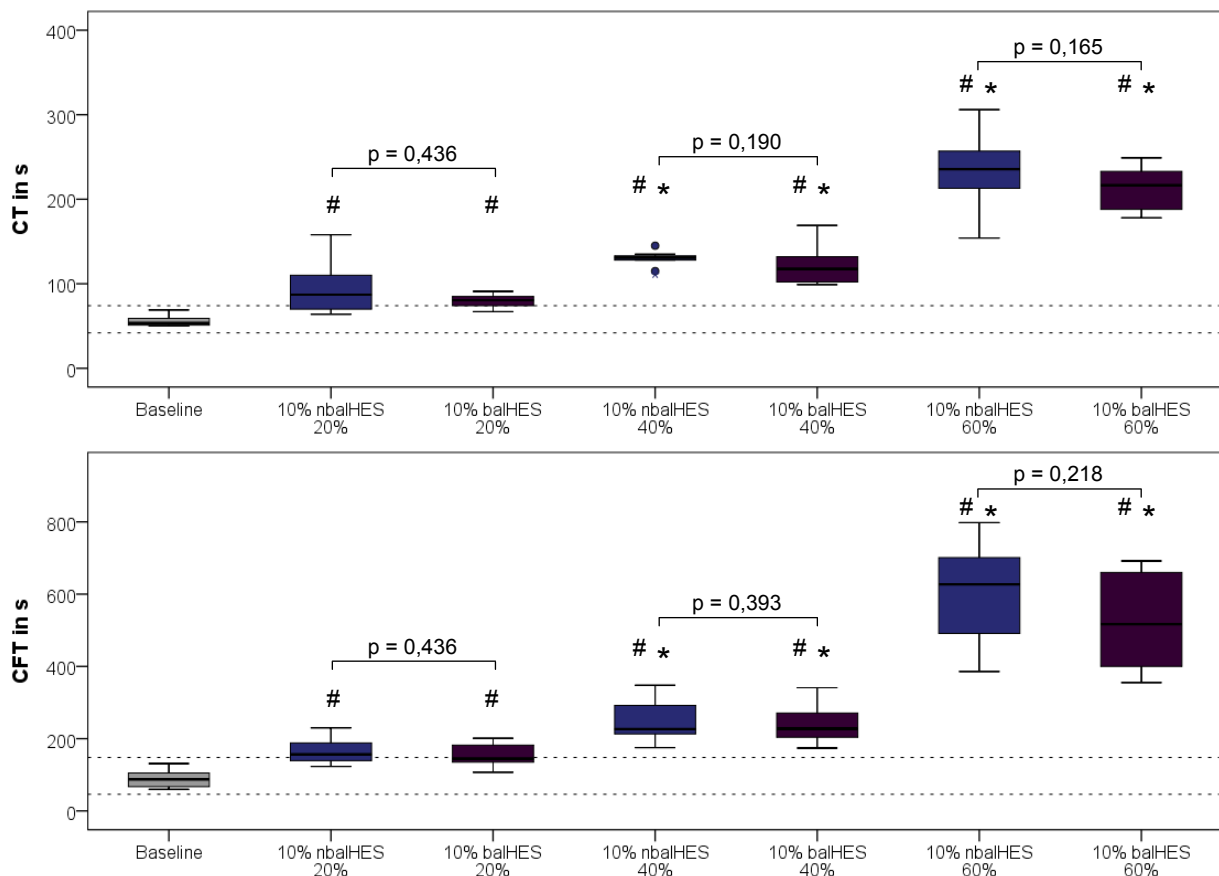


Abbildung 3.7 – CT und CFT in Sekunden im EXTEM-Test nach *in vitro*-Hämodilution mit hyperonkotischer (10 %), nicht-balancierter (nbal) versus Elektrolyt-balancierter (bal) HES

Box-and-Whisker-Plots (Minimum, erste Quartile, Median, dritte Quartile, Maximum). Gestrichelte Linien: Referenzbereich. # signifikanter Unterschied zur Baseline-Messung (exakte  $p$ -Werte s. Tabellen 3.8 - 9 und 3.15 - 16), \* signifikanter Unterschied zur niedrigeren Dilutionsstufe der gleichen HES-Präparation (exakte  $p$ -Werte s. Tabellen 3.8 - 9 und 3.15 - 16). Verwendete Abkürzungen: Elektrolyt-balanciert (bal), Clotting Time (CT), Clot Formation Time (CFT), nicht-balanciert (nbal), Hydroxyethylstärke (HES).

**MCF.** In Hinblick auf die verwendeten Trägerlösungen der hyperonkotischen HES-Lösungen ist auch für die MCF ein signifikanter Unterschied in der Ausprägung der verminderten Gerinnselfestigkeit nicht nachweisbar (siehe Abbildung 3.8).

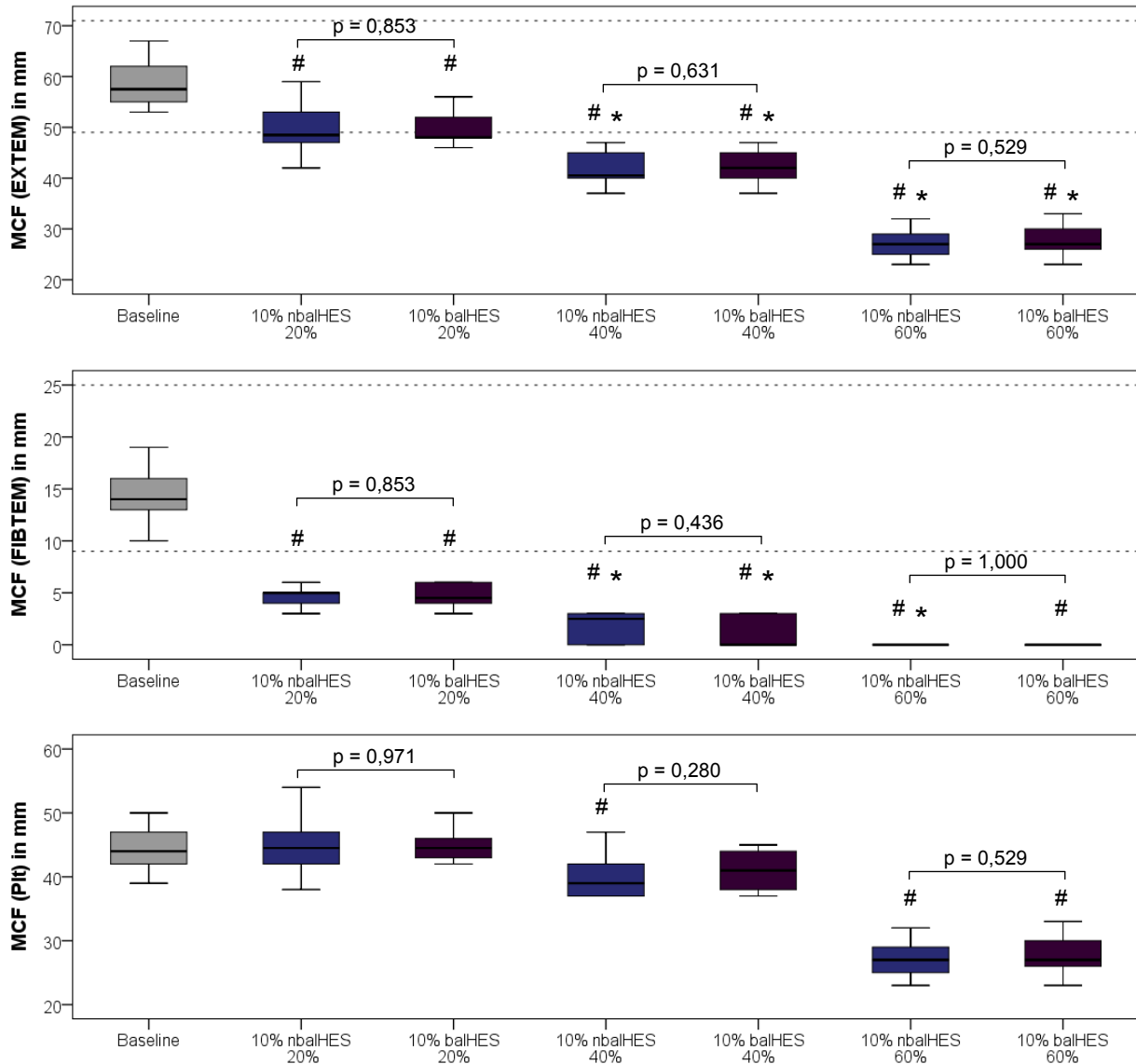


Abbildung 3.8 – MCF im EXTEM- und FIBTEM-Test und Darstellung des thrombozytären Anteils an der MCF (MCF<sub>Plt</sub>) in Millimeter nach *in vitro*-Hämodilution mit hyperonkotischer (10 %), nicht-balancierter (nbal) versus Elektrolyt-balancierter (bal) HES

Box-and-Whisker-Plots (Minimum, erste Quartile, Median, dritte Quartile, Maximum). Gestrichelte Linien: Referenzbereich. # signifikanter Unterschied zur Baseline-Messung (exakte *p*-Werte s. Tabellen 3.10 - 12 und 3.17 - 19), \* signifikanter Unterschied zur niedrigeren Dilutionsstufe der gleichen HES-Präparation (exakte *p*-Werte s. Tabellen 3.10 - 12 und 3.17 - 19). Verwendete Abkürzungen: Elektrolyt-balanciert (bal), Hydroxyethylstärke (HES), maximale Gerinnselfestigkeit (MCF), nicht-balanciert (nbal), Thrombozyten (Plt).



#### **3.3.4.4 Zusammenfassung**

In Hinblick auf die Ausprägung der HES-induzierten Koagulopathie resultiert die Verwendung einer Elektrolyt-balancierten Trägerlösung einer modernen hyperonkotischen HES-Präparation (MW 130.000 Da, DS 0,42) in dilutionsabhängig geringer ausgeprägten Veränderungen der konventionellen Laborparameter Quick-Wert und Faktor VIII<sub>rel</sub> als die Dilution mit einer nicht-balancierten Trägerlösung. Hinsichtlich der aPTT gibt es keine Unterschiede.

Die Spiegel des vor Recalcifizierung gemessenen ionisierten Calciums sind in allen Dilutionsstufen nach Dilution mit der Elektrolyt-balancierten hyperonkotischen Lösung signifikant höher.

Die Thrombozytenzahl und die relativen Werte der funktionellen vWF-Aktivitätsmessungen vWF-Aktivität bzw. vWF-Collagenbindungsaktivität zeigen keine signifikanten Unterschiede, die relativen Werte für vWF-Antigen hingegen sind in der 20-prozentigen Dilution der Elektrolyt-balancierten HES-Lösung höher.

In der Thrombelastometrie lässt sich für moderne hyperonkotische HES-Lösungen durch Verwendung einer Elektrolyt-balancierten verglichen mit einer nicht-balancierten Trägerlösung kein Unterschied in der Ausprägung der HES-induzierten Koagulopathie nachweisen.

#### **3.3.5 Blutgruppenabhängige Analyse des Faktor VIII und der vWF-Parameter**

Unter Berücksichtigung der in der Literatur beschriebenen, niedrigeren absoluten Werte von Faktor VIII, vWF-Antigen und vWF-Aktivität bei Trägern der Blutgruppe 0 werden für jede der vier untersuchten HES-Präparationen zunächst die absoluten Werte nach *in vitro*-Hämodilution in Abhängigkeit von der Blutgruppe dargestellt und miteinander verglichen. Im zweiten Schritt werden die relativen Werte der Blutgruppen verglichen.

In Kapitel 3.3.5.1 wird die nicht-balancierte HES 6 %-Lösung betrachtet, in Kapitel 3.3.5.2 die nicht-balancierte 10-prozentige Präparation. Die Ergebnisse der *in vitro*-Hämodilution mit den Elektrolyt-balancierten HES-Lösungen sind in Kapitel 3.3.5.3 für die isoonkotische und in Kapitel 3.3.5.4 für die hyperonkotische Präparation dargestellt.

### 3.3.5.1 Blutgruppenabhängige Analyse von Faktor VIII und der vWF-Parameter nach Dilution mit einer nicht-balancierten, isoonkotischen HES-Präparation

Die Mediane der absoluten Messwerte von FVIII, vWF-Antigen, vWF-Aktivität und vWF:CBA liegen bei der Blutgruppe 0 sowohl in der Baseline-Messung als auch nach *in vitro*-Hämodilution in den einzelnen Dilutionsstufen unterhalb derer für Blutgruppe A (siehe Tabelle 3.23). Der Abfall der absoluten Messwerte von FVIII und der vWF-Parameter vWF-Antigen, vWF-Aktivität und vWF-Collagenbindungsaktivität ist im Vergleich zur Baseline-Messung für Blutgruppe 0 bei  $n = 4$  in keiner Dilutionsstufe, für Blutgruppe A mit  $n = 6$  dagegen für die vier Parameter in jeder Dilutionsstufe signifikant (siehe Tabelle 3.23). Der Unterschied zwischen den Blutgruppen 0 und A ist lediglich in der 20-prozentigen Dilutionsstufe für FVIII signifikant ( $p = 0,038$ ) (siehe Tabelle 3.23).

Tabelle 3.23 – Absolute Werte von FVIII und der vWF-Parameter nach *in vitro*-Hämodilution mit nicht-balancierter isoonkotischer (6 %) HES (BG 0 vs. A)

	Blutgruppe 0		Blutgruppe A		$p$ BG 0 vs. A
<b>Faktor VIII [%]</b>		$p_{Baseline}$		$p_{Baseline}$	
unverdünnte Kontrolle	51,0 (51 - 65)	n.a.	62,0 (61 - 120)	n.a.	0,114
20%ige Dilution	37,5 (35 - 47)	0,068	49,5 (45 - 62)	0,027	<b>0,038</b>
40%ige Dilution	25,5 (22 - 33)	0,068	31,3 (27 - 42)	0,028	0,114
60%ige Dilution	16,0 (13 - 20)	0,066	19,0 (16 - 24)	0,028	0,171
<b>vWF-Antigen [%]</b>		$p_{Baseline}$		$p_{Baseline}$	
unverdünnte Kontrolle	88,5 (80 - 157)	n.a.	118,5 (89 - 156)	n.a.	0,610
20%ige Dilution	64,0 (55 - 102)	0,068	83,5 (62 - 107)	0,027	0,257
40%ige Dilution	43,5 (34 - 72)	0,068	52,0 (44 - 77)	0,028	0,257
60%ige Dilution	26,5 (21 - 43)	0,068	34,5 (27 - 39)	0,028	0,476
<b>vWF-Aktivität [%]</b>		$p_{Baseline}$		$p_{Baseline}$	
unverdünnte Kontrolle	80,0 (73 - 144)	n.a.	99,5 (71 - 117)	n.a.	0,352
20%ige Dilution	55,5 (48 - 97)	0,068	74,0 (50 - 90)	0,026	0,476
40%ige Dilution	37,0 (30 - 65)	0,068	44,5 (35 - 65)	0,027	0,257
60%ige Dilution	23,0 (19 - 41)	0,068	31,0 (23 - 34)	0,027	0,352
<b>vWF:CBA [%]</b>		$p_{Baseline}$		$p_{Baseline}$	
unverdünnte Kontrolle	0,75 (0,6 - 1,3)	n.a.	1,00 (0,7 - 1,4)	n.a.	0,257
20%ige Dilution	0,55 (0,4 - 1,1)	0,046	0,75 (0,5 - 1,1)	0,026	0,352
40%ige Dilution	0,40 (0,3 - 0,7)	0,066	0,50 (0,4 - 0,7)	0,027	0,352
60%ige Dilution	0,20 (0,2 - 0,3)	0,068	0,25 (0,2 - 0,4)	0,027	0,476

Die Ergebnisse sind als Median (Minimum - Maximum) angegeben. Verwendete Abkürzungen: Blutgruppe (BG), Collagenbindungsaktivität (CBA), Hydroxyethylstärke (HES), nicht anwendbar (n.a.), versus (vs.), von-Willebrand-Faktor (vWF).

Auch für die relativen Messwerte von FVIII und der von-Willebrand-Parameter ist der Abfall im Vergleich zur Baseline-Messung für Blutgruppe 0 bei  $n = 4$  in keiner, für Blutgruppe A mit  $n = 6$  dagegen in jeder Dilutionsstufe signifikant (siehe Tabelle 3.24).

Zwischen den Blutgruppen existieren für die relativen Werte der vier Parameter nach *in vitro*-Hämodilution mit der isoonkotischen, nicht-balancierten HES-Lösung keine Unterschiede (siehe Tabelle 3.24).

Tabelle 3.24 –  $FVIII_{rel}$  und  $vWF\text{-Parameter}_{rel}$  nach *in vitro*-Hämodilution mit nicht-balancierter isoonkotischer (6 %) HES (BG 0 vs. A)

	Blutgruppe 0		Blutgruppe A		$p$ BG 0 vs. A
<b>Faktor VIII<sub>rel</sub> [%]</b>		$p_{Baseline}$		$p_{Baseline}$	
unverdünnte Kontrolle	100	n.a.	100	n.a.	n.a.
20%ige Dilution	72 (69 - 75)	0,068	76 (52 - 82)	0,028	0,257
40%ige Dilution	49 (43 - 53)	0,068	49 (35 - 53)	0,028	1,000
60%ige Dilution	31 (25 - 31)	0,066	30 (17 - 32)	0,028	0,610
<b>vWF-Antigen<sub>rel</sub> [%]</b>		$p_{Baseline}$		$p_{Baseline}$	
unverdünnte Kontrolle	100	n.a.	100	n.a.	n.a.
20%ige Dilution	70 (65 - 73)	0,068	69 (68 - 73)	0,028	1,000
40%ige Dilution	47 (41 - 51)	0,068	47 (41 - 49)	0,028	0,914
60%ige Dilution	28 (26 - 31)	0,068	29 (25 - 31)	0,028	1,000
<b>vWF-Aktivität<sub>rel</sub> [%]</b>		$p_{Baseline}$		$p_{Baseline}$	
unverdünnte Kontrolle	100	n.a.	100	n.a.	n.a.
20%ige Dilution	69 (63 - 71)	0,068	72 (69 - 77)	0,028	0,067
40%ige Dilution	45 (41 - 48)	0,068	48 (40 - 56)	0,028	0,476
60%ige Dilution	29 (25 - 30)	0,068	32 (23 - 34)	0,028	0,476
<b>vWF:CBA<sub>rel</sub> [%]</b>		$p_{Baseline}$		$p_{Baseline}$	
unverdünnte Kontrolle	100	n.a.	100	n.a.	n.a.
20%ige Dilution	73 (67 - 85)	0,068	75 (67 - 80)	0,028	1,000
40%ige Dilution	52 (50 - 57)	0,066	50 (40 - 57)	0,026	0,610
60%ige Dilution	27 (23 - 33)	0,068	27 (20 - 33)	0,027	0,762

Die Ergebnisse sind als Median (Minimum - Maximum) angegeben. Verwendete Abkürzungen: Blutgruppe (BG), Collagenbindungsaktivität (CBA), Hydroxyethylstärke (HES), nicht anwendbar (n.a.), relativ (rel), versus (vs.), von-Willebrand-Faktor (vWF).

### 3.3.5.2 Blutgruppenabhängige Analyse von Faktor VIII und der vWF-Parameter nach Dilution mit einer nicht-balancierten, hyperonkotischen HES-Präparation

Die Mediane der absoluten Messwerte für Faktor VIII, vWF-Antigen, vWF-Aktivität und vWF:CBA liegen nach *in vitro*-Hämodilution mit der nicht-balancierten, hyperonkotischen HES-Präparation für BG 0 unterhalb derer für BG A (siehe Tabelle 3.25).

Der Abfall der absoluten Messwerte dieser vier Parameter ist im Vergleich zur Baseline-Messung für Blutgruppe 0 bei n = 4 in keiner, für Blutgruppe A mit n = 6 dagegen in jeder Dilutionsstufe signifikant (siehe Tabelle 3.25).

Zwischen den beiden Blutgruppen besteht bei den absoluten Werten ein Unterschied ausschließlich hinsichtlich Faktor VIII, der in der 20- und 60-prozentigen Dilutionsstufe signifikant ist ( $p_{20\%} = 0,010$ ,  $p_{60\%} = 0,010$ ), in der 40-prozentigen Dilutionsstufe dagegen nur als Trend ( $p = 0,067$ ) besteht (siehe Tabelle 3.25).

Tabelle 3.25 – Absolute Werte von FVIII und der vWF-Parameter nach *in vitro*-Hämodilution mit nicht-balancierter hyperonkotischer (10 %) HES (BG 0 vs. A)

	<b>Blutgruppe 0</b>		<b>Blutgruppe A</b>		<b>p</b> BG 0 vs. A
<b>Faktor VIII [%]</b>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	51 (51 - 65)	n.a.	62 (61 - 120)	n.a.	0,114
<i>20%ige Dilution</i>	43,5 (41 - 51)	0,068	55 (53 - 77)	0,027	<b>0,010</b>
<i>40%ige Dilution</i>	27,5 (23 - 37)	0,066	36,5 (33 - 61)	0,028	0,067
<i>60%ige Dilution</i>	15 (15 - 19)	0,059	20,5 (19 - 26)	0,027	<b>0,010</b>
<b>vWF-Antigen [%]</b>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	88,5 (80 - 157)	n.a.	118,5 (89 - 156)	n.a.	0,610
<i>20%ige Dilution</i>	63,5 (54 - 101)	0,066	81,5 (66-112)	0,028	0,257
<i>40%ige Dilution</i>	41,5 (33 - 72)	0,068	56,5 (45 - 75)	0,028	0,171
<i>60%ige Dilution</i>	26 (21 - 42)	0,068	34 (29 - 48)	0,028	0,171
<b>vWF-Aktivität [%]</b>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	80 (73 - 144)	n.a.	99,5 (71 - 117)	n.a.	0,352
<i>20%ige Dilution</i>	54,5 (45 - 91)	0,068	72 (54 - 91)	0,028	0,257
<i>40%ige Dilution</i>	34,5 (30 - 66)	0,068	49,5 (35 - 62)	0,028	0,352
<i>60%ige Dilution</i>	24 (15 - 33)	0,068	26,5 (21 - 34)	0,028	0,610
<b>vWF:CBA [%]</b>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	0,75 (0,6 - 1,3)	n.a.	1,0 (0,7 - 1,4)	n.a.	0,257
<i>20%ige Dilution</i>	0,65 (0,5 - 0,9)	0,109	0,75 (0,5 - 1,1)	0,026	0,610
<i>40%ige Dilution</i>	0,3 (0,3 - 0,6)	0,068	0,5 (0,3 - 0,6)	0,027	0,352
<i>60%ige Dilution</i>	0,2 (0,2 - 0,3)	0,068	0,2 (0,2 - 0,3)	0,027	0,914

Die Ergebnisse sind als Median (Minimum - Maximum) angegeben. Verwendete Abkürzungen: Blutgruppe (BG), Collagenbindungsaktivität (CBA), Hydroxyethylstärke (HES), nicht anwendbar (n.a.), versus (vs.), von-Willebrand-Faktor (vWF).

Im Vergleich der relativen Werte der vier Parameter FVIII, vWF-Antigen, vWF-Aktivität und vWF:CBA ist der Abfall für Blutgruppe 0 mit n = 4 in keiner Dilutionsstufe, für Blutgruppe A mit n = 6 dagegen in jeder Dilutionsstufe signifikant (siehe Tabelle 3.26).

Tabelle 3.26 – FVIII<sub>rel</sub> und vWF-Parameter<sub>rel</sub> nach *in vitro*-Hämodilution mit nicht-balancierter hyperonkotischer (10 %) HES (BG 0 vs. A)

	<b>Blutgruppe 0</b>		<b>Blutgruppe A</b>		<b>p</b> BG 0 vs. A
<b>Faktor VIII<sub>rel</sub> [%]</b>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	100	n.a.	100	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	81 (78 - 88)	0,068	86 (64 - 90)	0,027	0,352
<i>40%ige Dilution</i>	53 (45 - 59)	0,068	55 (51 - 60)	0,028	0,610
<i>60%ige Dilution</i>	29 (29 - 29)	0,059	32 (22 - 34)	0,028	0,114
<b>vWF-Antigen<sub>rel</sub> [%]</b>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	100	n.a.	100	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	69 (64 - 73)	0,068	71 (66 - 74)	0,028	0,610
<i>40%ige Dilution</i>	46 (41 - 48)	0,068	48 (45 - 51)	0,028	0,067
<i>60%ige Dilution</i>	28 (26 - 29)	0,068	29 (27 - 33)	0,028	0,257
<b>vWF-Aktivität<sub>rel</sub> [%]</b>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	100	n.a.	100	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	66 (59 - 70)	0,068	73 (65 - 78)	0,028	<b>0,038</b>
<i>40%ige Dilution</i>	44 (39 - 46)	0,068	49 (44 - 53)	0,028	<b>0,019</b>
<i>60%ige Dilution</i>	24 (20 - 37)	0,068	27 (25 - 30)	0,028	0,257
<b>vWF:CBA<sub>rel</sub> [%]</b>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	100	n.a.	100	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	79 (69 - 100)	0,109	75 (60 - 80)	0,028	0,352
<i>40%ige Dilution</i>	45 (38 - 50)	0,068	43 (40 - 56)	0,027	0,914
<i>60%ige Dilution</i>	27 (23 - 33)	0,068	21 (17 - 29)	0,027	<b>0,038</b>

Die Ergebnisse sind als Median (Minimum - Maximum) angegeben. Verwendete Abkürzungen: Blutgruppe (BG), Collagenbindungsaktivität (CBA), Hydroxyethylstärke (HES), nicht anwendbar (n.a.), relativ (rel), versus (vs.), von-Willebrand-Faktor (vWF).

**FVIII.** Trotz signifikanter Unterschiede in den absoluten Messwerten zwischen den beiden Blutgruppen für FVIII unterscheiden sich die relativen Messwerte nicht signifikant (vergleiche Tabellen 3.25 und 3.26).

**vWF-Antigen.** Für vWF-Antigen existieren auch unter Betrachtung der relativen Messwerte keine signifikanten Unterschiede zwischen den untersuchten Blutgruppen 0 und A (siehe Tabelle 3.26).

**vWF-Aktivität und vWF-Collagenbindungsaktivität.** Während keine signifikanten Unterschiede zwischen den Blutgruppen für die absoluten Messwerte der funktionellen Aktivität des von-Willebrand-Faktors – gemessen mittels Gplb-Bindung (vWF-Aktivität) bzw. vWF-Collagenbindungsaktivität (vWF:CBA) – darstellbar sind (siehe Tabelle 3.25), unterscheiden sich die relativen Messwerte: Die vWF-Aktivität ist in

20- und 40-prozentiger Dilution für Blutgruppe 0 signifikant niedriger ( $p_{20\%} = 0,038$ ,  $p_{40\%} = 0,019$ ). Die vWF:CBA der Blutgruppe 0-Proben ist in 60-prozentiger Dilution signifikant höher als die der Blutgruppe A ( $p = 0,038$ ) (siehe Tabelle 3.26).

### 3.3.5.3 Blutgruppenabhängige Analyse von FVIII und der vWF-Parameter nach Dilution mit einer Elektrolyt-balancierten, isoonkotischen HES-Präparation

Die Mediane der absoluten Messwerte für Faktor VIII, vWF-Antigen, vWF-Aktivität und vWF-Collagenbindungsaktivität liegen auch nach *in vitro*-Hämodilution mit der Elektrolyt-balancierten, isoonkotischen HES-Präparation für Blutgruppe 0 in den einzelnen Dilutionsstufen unterhalb der Mediane der absoluten Messwerte für Blutgruppe A (siehe Tabelle 3.27).

Tabelle 3.27 – Absolute Werte von FVIII und der vWF-Parameter nach *in vitro*-Hämodilution mit Elektrolyt-balancierter isoonkotischer (6 %) HES (BG 0 vs. A)

	Blutgruppe 0		Blutgruppe A		$p$ BG 0 vs. A
<b>Faktor VIII [%]</b>		$p_{Baseline}$		$p_{Baseline}$	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	51 (51 - 65)	n.a.	62 (61 - 120)	n.a.	0,114
<i>20%ige Dilution</i>	42 (39 - 52)	0,068	56,5 (43 - 69)	0,075	0,067
<i>40%ige Dilution</i>	32 (30 - 44)	0,066	42,5 (38 - 49)	0,028	0,067
<i>60%ige Dilution</i>	19 (18 - 25)	0,066	25,5 (24 - 31)	0,026	<b>0,038</b>
<b>vWF-Antigen [%]</b>		$p_{Baseline}$		$p_{Baseline}$	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	88,5 (80 - 157)	n.a.	118,5 (89 - 156)	n.a.	0,610
<i>20%ige Dilution</i>	63,5 (56 - 103)	0,066	85 (65 - 111)	0,028	0,257
<i>40%ige Dilution</i>	45 (37 - 71)	0,068	54 (45 - 76)	0,028	0,257
<i>60%ige Dilution</i>	26 (22 - 45)	0,066	35,5 (27 - 43)	0,028	0,352
<b>vWF-Aktivität [%]</b>		$p_{Baseline}$		$p_{Baseline}$	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	80 (73 - 144)	n.a.	99,5 (71 - 117)	n.a.	0,352
<i>20%ige Dilution</i>	56,5 (51 - 99)	0,068	74 (58 - 96)	0,028	0,352
<i>40%ige Dilution</i>	38 (34 - 64)	0,068	50,5 (37 - 66)	0,028	0,257
<i>60%ige Dilution</i>	25,5 (17 - 44)	0,066	33 (25 - 39)	0,028	0,352
<b>vWF:CBA [%]</b>		$p_{Baseline}$		$p_{Baseline}$	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	0,75 (0,6 - 1,3)	n.a.	1,0 (0,7 - 1,4)	n.a.	0,257
<i>20%ige Dilution</i>	0,5 (0,4 - 1,0)	0,059	0,7 (0,5 - 1,0)	0,027	0,257
<i>40%ige Dilution</i>	0,3 (0,3 - 0,5)	0,068	0,45 (0,3 - 0,6)	0,027	0,171
<i>60%ige Dilution</i>	0,2 (0,1 - 0,3)	0,066	0,25 (0,2 - 0,3)	0,027	0,352

Die Ergebnisse sind als Median (Minimum - Maximum) angegeben. Verwendete Abkürzungen: Blutgruppe (BG), Collagenbindungsaktivität (CBA), Hydroxyethylstärke (HES), nicht anwendbar (n.a.), versus (vs.), von-Willebrand-Faktor (vWF).

Der Abfall der absoluten Messwerte dieser vier Parameter ist im Vergleich zur Baseline-Messung für Blutgruppe 0 bei n = 4 in keiner, für Blutgruppe A mit n = 6 dagegen in jeder Dilutionsstufe signifikant (siehe Tabelle 3.27).

Zwischen den beiden Blutgruppen bestehen bei den absoluten Werten dieser vier Parameter zwischen den Blutgruppen nur hinsichtlich FVIII ein Trend zu höheren Werten bei Blutgruppe A in den Dilutionsstufen 20 % und 40 % (p = 0,067) bzw. in der 60-prozentigen Dilutionsstufe ein signifikanter Unterschied mit höheren Werten für Blutgruppe A (p = 0,038) (siehe Tabelle 3.27).

Im Vergleich der relativen Werte der vier Parameter FVIII, vWF-Antigen, vWF-Aktivität und vWF:CBA ist der Abfall für Blutgruppe 0 mit n = 4 in keiner Dilutionsstufe, für Blutgruppe A mit n = 6 dagegen in jeder Dilutionsstufe signifikant (siehe Tabelle 3.28).

Tabelle 3.28 – FVIII<sub>rel</sub> und vWF-Parameter<sub>rel</sub> nach *in vitro*-Hämodilution mit Elektrolyt-balancierter isoonkotischer (6 %) HES (BG 0 vs. A)

	<b>Blutgruppe 0</b>		<b>Blutgruppe A</b>		<b>p</b> BG 0 vs. A
<b>Faktor VIII<sub>rel</sub> [%]</b>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	100	n.a.	100	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	79 (76 - 86)	0,068	81 (47 - 111)	0,075	0,914
<i>40%ige Dilution</i>	63 (59 - 68)	0,068	64 (41 - 71)	0,028	0,914
<i>60%ige Dilution</i>	37 (35 - 39)	0,066	40 (25 - 42)	0,027	0,114
<b>vWF-Antigen<sub>rel</sub> [%]</b>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	100	n.a.	100	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	70 (66 - 73)	0,068	71 (58 - 86)	0,028	0,762
<i>40%ige Dilution</i>	48 (45 - 51)	0,068	49 (43 - 51)	0,028	0,914
<i>60%ige Dilution</i>	29 (28 - 29)	0,068	29 (28 - 31)	0,028	0,476
<b>vWF-Aktivität<sub>rel</sub> [%]</b>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	100	n.a.	100	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	69 (68 - 73)	0,068	72 (66 - 96)	0,028	0,610
<i>40%ige Dilution</i>	46 (44 - 49)	0,068	51 (47 - 56)	0,028	<b>0,019</b>
<i>60%ige Dilution</i>	30 (22 - 36)	0,068	33 (32 - 35)	0,028	0,257
<b>vWF:CBA<sub>rel</sub> [%]</b>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	100	n.a.	100	n.a.	n.a.
<i>20%ige Dilution</i>	70 (57 - 83)	0,068	71 (58 - 78)	0,028	0,914
<i>40%ige Dilution</i>	41 (38 - 50)	0,068	43 (40 - 50)	0,027	0,476
<i>60%ige Dilution</i>	24 (17 - 29)	0,068	24 (20 - 30)	0,028	0,914

Die Ergebnisse sind als Median (Minimum - Maximum) angegeben. Verwendete Abkürzungen: Blutgruppe (BG), Collagenbindungsaktivität (CBA), Hydroxyethylstärke (HES), nicht anwendbar (n.a.), relativ (rel), versus (vs.), von-Willebrand-Faktor (vWF).

**FVIII.** Trotz des signifikanten Unterschieds in den absoluten Messwerten zwischen den beiden Blutgruppen in der 60-prozentigen Dilutionsstufe unterscheiden sich die relativen Messwerte nicht signifikant (vergleiche Tabellen 3.27 und 3.28).

**vWF-Antigen und vWF-Collagenbindungsaktivität.** Für vWF-Antigen und vWF:CBA existieren auch unter Betrachtung der relativen Messwerte keine signifikanten Unterschiede zwischen den untersuchten Blutgruppen 0 und A (siehe Tabelle 3.28).

**vWF-Aktivität.** Während signifikante Unterschiede zwischen den Blutgruppen für die absoluten Messwerte der funktionellen Aktivität des von-Willebrand-Faktors (vWF-Aktivität) nicht festgestellt werden konnten (siehe Tabelle 3.28), sind die relativen Messwerte für Blutgruppe 0 in der 40-prozentigen Dilutionsstufe signifikant niedriger ( $p = 0,019$ ) (siehe Tabelle 3.28).

#### **3.3.5.4 Blutgruppenabhängige Analyse von FVIII und der vWF-Parameter nach Dilution mit einer Elektrolyt-balancierten, hyperonkotischen HES-Lösung**

Nach *in vitro*-Hämodilution mit der hyperonkotischen, Elektrolyt-balancierten HES-Lösung sind die Mediane der absoluten Messwerte von Blutgruppe 0 für Faktor VIII, vWF-Antigen, vWF-Aktivität und vWF-Collagenbindungsaktivität in den einzelnen Dilutionsstufen niedriger als die Mediane der absoluten Messwerte von Blutgruppe A (siehe Tabelle 3.29).

Der Abfall der absoluten Messwerte dieser vier Parameter ist im Vergleich zur Baseline-Messung für Blutgruppe 0 bei  $n = 4$  in keiner, für Blutgruppe A mit  $n = 6$  dagegen in jeder Dilutionsstufe signifikant (siehe Tabelle 3.29).

Zwischen den beiden Blutgruppen besteht bei den absoluten Werten ein signifikanter Unterschied ausschließlich hinsichtlich des Faktors VIII in jeder der drei verwendeten Dilutionsstufen (siehe Tabelle 3.29).

Im Vergleich der relativen Werte der vier Parameter FVIII, vWF-Antigen, vWF-Aktivität und vWF:CBA ist der Abfall für Blutgruppe 0 mit  $n = 4$  in keiner Dilutionsstufe, für Blutgruppe A mit  $n = 6$  dagegen in jeder Dilutionsstufe signifikant (siehe Tabelle 3.30).



Tabelle 3.29 – Absolute Werte von FVIII und der vWF-Parameter nach *in vitro*-Hämodilution mit Elektrolyt-balancierter hyperonkotischer (10 %) HES (BG 0 vs. A)

	<i>Blutgruppe 0</i>		<i>Blutgruppe A</i>		<i>p</i> <i>BG 0 vs. A</i>
<b>Faktor VIII [%]</b>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	51 (51 - 65)	n.a.	62 (61 - 120)	n.a.	0,114
<i>20%ige Dilution</i>	44 (41 - 51)	0,066	52 (50 - 64)	0,027	<b>0,038</b>
<i>40%ige Dilution</i>	33 (28 - 37)	0,068	40 (39 - 47)	0,024	<b>0,010</b>
<i>60%ige Dilution</i>	20 (18 - 25)	0,066	28 (24 - 33)	0,027	<b>0,038</b>
<b>vWF-Antigen [%]</b>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	88,5 (80-157)	n.a.	118,5 (89 - 156)	n.a.	0,610
<i>20%ige Dilution</i>	64 (55 - 116)	0,068	87 (66 - 117)	0,028	0,257
<i>40%ige Dilution</i>	41,5 (33 - 77)	0,068	56,5 (47 - 76)	0,028	0,257
<i>60%ige Dilution</i>	26 (22 - 39)	0,068	31,5 (28 - 47)	0,028	0,171
<b>vWF-Aktivität [%]</b>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	80 (73 - 144)	n.a.	99,5 (71 - 117)	n.a.	0,352
<i>20%ige Dilution</i>	56,5 (51 - 96)	0,068	75 (55 - 91)	0,027	0,352
<i>40%ige Dilution</i>	33,5 (29 - 67)	0,066	49,5 (36 - 64)	0,027	0,352
<i>60%ige Dilution</i>	20,5 (14 - 34)	0,068	25,5 (21 - 38)	0,028	0,171
<b>vWF:CBA [%]</b>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
<i>unverdünnte Kontrolle</i>	0,75 (0,6 - 1,3)	n.a.	1,0 (0,7 - 1,4)	n.a.	0,257
<i>20%ige Dilution</i>	0,55 (0,4 - 0,9)	0,059	0,7 (0,6 - 1,0)	0,026	0,257
<i>40%ige Dilution</i>	0,3 (0,2 - 0,5)	0,066	0,4 (0,3 - 0,6)	0,027	0,171
<i>60%ige Dilution</i>	0,15 (0,1 - 0,3)	0,066	0,2 (0,2 - 0,3)	0,027	0,476

Die Ergebnisse sind als Median (Minimum - Maximum) angegeben. Verwendete Abkürzungen: Blutgruppe (BG), Collagenbindungsaktivität (CBA), Hydroxyethylstärke (HES), nicht anwendbar (n.a.), versus (vs.), von-Willebrand-Faktor (vWF).

**FVIII.** Trotz des signifikanten Unterschieds zwischen den beiden Blutgruppen in den absoluten Messwerten in allen Dilutionsstufen unterscheiden sich die relativen Messwerte in keiner Dilutionsstufe signifikant (vergleiche Tabellen 3.29 und 3.30).

**vWF-Antigen und vWF-Collagenbindungsaktivität.** Für vWF-Antigen und vWF:CBA existieren auch unter Betrachtung der relativen Messwerte keine signifikanten Unterschiede zwischen den untersuchten Blutgruppen 0 und A (siehe Tabelle 3.30).

**vWF-Aktivität.** Während keine signifikanten Unterschiede zwischen den Blutgruppen für die absoluten Messwerte der funktionellen Aktivität des von-Willebrand-Faktors (vWF-Aktivität) dargestellt werden können (siehe Tabelle 3.29), sind die relativen Messwerte für Blutgruppe 0 in der 20- und der 40-prozentigen Dilutionsstufe signifikant niedriger ( $p_{20\%} = 0,038$ ,  $p_{40\%} = 0,019$ ) (siehe Tabelle 3.30).

Tabelle 3.30 – FVIII<sub>rel</sub> und vWF-Parameter<sub>rel</sub> nach *in vitro*-Hämodilution mit Elektrolyt-balancierter hyperonkotischer (10 %) HES (BG 0 vs. A)

	Blutgruppe 0		Blutgruppe A		<i>p</i> BG 0 vs. A
<b>Faktor VIII<sub>rel</sub> [%]</b>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
unverdünnte Kontrolle	100	n.a.	100	n.a.	n.a.
20%ige Dilution	83 (78 - 86)	0,066	81 (53 - 85)	0,027	0,476
40%ige Dilution	59 (55 - 69)	0,068	64 (39 - 65)	0,026	0,762
60%ige Dilution	37 (35 - 43)	0,066	39 (28 - 46)	0,027	0,352
<b>vWF-Antigen<sub>rel</sub> [%]</b>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
unverdünnte Kontrolle	100	n.a.	100	n.a.	n.a.
20%ige Dilution	72 (69 - 74)	0,068	73 (71 - 75)	0,028	0,257
40%ige Dilution	47 (41 - 49)	0,068	49 (45 - 53)	0,028	0,171
60%ige Dilution	28 (25 - 30)	0,068	38 (25 - 31)	0,028	1,000
<b>vWF-Aktivität<sub>rel</sub> [%]</b>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
unverdünnte Kontrolle	100	n.a.	100	n.a.	n.a.
20%ige Dilution	69 (67 - 73)	0,068	77 (70 - 79)	0,028	<b>0,038</b>
40%ige Dilution	43 (38 - 47)	0,068	50 (46 - 55)	0,028	<b>0,019</b>
60%ige Dilution	24 (18 - 27)	0,068	28 (22 - 32)	0,028	0,171
<b>vWF:CBA<sub>rel</sub> [%]</b>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>		<i>p</i> <sub>Baseline</sub>	
unverdünnte Kontrolle	100	n.a.	100	n.a.	n.a.
20%ige Dilution	70 (67 - 75)	0,068	71 (60 - 86)	0,028	0,914
40%ige Dilution	38 (33 - 43)	0,068	42 (40 - 44)	0,027	0,114
60%ige Dilution	20 (14 - 25)	0,068	21 (17 - 29)	0,027	0,762

Die Ergebnisse sind als Median (Minimum - Maximum) angegeben. Verwendete Abkürzungen: Blutgruppe (BG), Collagenbindungsaktivität (CBA), Hydroxyethylstärke (HES), nicht anwendbar (n.a.), relativ (rel), versus (vs.), von-Willebrand-Faktor (vWF).

### 3.3.5.5 Zusammenfassung

Die Mediane der absoluten Messwerte von Faktor VIII, vWF-Antigen, vWF-Aktivität und vWF-Collagenbindungsaktivität liegen vor und nach *in vitro*-Hämodilution mit allen vier verwendeten HES-Präparationen der dritten Generation in allen Dilutionsstufen für Blutgruppe 0 unterhalb derer der Blutgruppe A. Unterschiede der absoluten Messwerte lassen sich nur für FVIII darstellen. Bei Betrachtung der relativen Messwerte dagegen existieren zwischen den Blutgruppen keine Unterschiede für FVIII oder vWF-Antigen. Die vWF-Aktivität<sub>rel</sub> für Blutgruppe 0 ist nach *in vitro*-Hämodilution mit den beiden HES 10 %-Lösungen in der 20- und 40-prozentigen und nach Dilution mit der Elektrolyt-balancierten HES 6 %-Lösung in der 40-prozentigen Dilutionsstufe signifikant niedriger. Die vWF:CBA<sub>rel</sub> ist nach *in vitro*-Hämodilution mit der nicht-balancierten HES 10 %-Lösung für Blutgruppe 0 signifikant höher (60 % Hämodilution).

---

## 4 Diskussion

Seit der Erstbeschreibung der HES-induzierten Gerinnungsstörung im Jahr 1965 durch Thompson und Gadsden [129] hat in Hinblick auf die HES-Moleküle und die Zusammensetzung der Trägerlösung eine Evolution über mehrere Generationen von HES-Lösungen stattgefunden [147]. Die vorliegende Arbeit untersucht im Gegensatz zu bereits publizierten Studien mit modernen Hydroxyethylstärke (HES)-Lösungen der dritten Generation (MW 130.000 Da, DS 0,4 bzw. 0,42) sowohl den Einfluss der HES-Konzentration als auch den Einfluss der Zusammensetzung der Trägerlösung auf die HES-induzierte Koagulopathie anhand konventioneller Laborparameter und anhand der Parameter der aktivierten Thrombelastometrie in einem *in vitro*-Hämodilutionsmodell.

In Kapitel 4.1 wird der Einfluss der HES-Konzentration auf die HES-induzierte Koagulopathie, in Kapitel 4.2 der Einfluss der Trägerlösung für diese modernen HES-Lösungen diskutiert. Die Reproduzierbarkeit eines HES-induzierten erworbenen von-Willebrand-Syndroms Typ 1 für moderne HES-Präparationen der dritten Generation und eine mögliche Blutgruppenabhängigkeit wird in Kapitel 4.3 diskutiert.

Nach der Methodenkritik in Kapitel 4.4 folgt abschließend das Kapitel 4.5 *Schlussfolgerungen und Ausblick*.

### 4.1 Einfluss der HES-Konzentration

#### 4.1.1 Einfluss der HES-Konzentration auf die Laborparameter

Signifikante Unterschiede zwischen den Ergebnissen der isoonkotischen 6-prozentigen und der hyperonkotischen 10-prozentigen HES-Lösungen traten bei Quick-Wert, aPTT, Faktor VIII, vWF-Aktivität und vWF:CBA auf. Der Quick-Wert, die aPTT und der Faktor VIII waren in einzelnen Dilutionsstufen für die 6-prozentige Lösung stärker im Sinne einer verminderten Gerinnbarkeit verändert als für die 10-prozentige HES-Präparation, die vWF-Aktivität und vWF:CBA dagegen weniger stark.

##### 4.1.1.1 Einfluss der HES-Konzentration auf Quick-Wert, aPTT und Faktor VIII

Das Phänomen einer geringeren Beeinträchtigung der globalen Gerinnungsparameter Quick-Wert und aPTT sowie des Einzelfaktors VIII nach *in vivo*-Hämodilution mit hyperonkotischen HES-Lösungen wurde in der Literatur für HES-Lösungen der ersten

und zweiten Generation mit MW > 200.000 Da und DS > 0,5 beschrieben [124, 137]. Valide *in vitro*-Ergebnisse mit der Gegenüberstellung einer modernen iso- und hyperonkotischen HES-Lösung der dritten Generation sind bisher nicht publiziert worden.

Treib und Kollegen publizierten eine *in vivo*-Studie, in der die Effekte einer zehntägigen Infusion entweder einer nicht-balancierten isoonkotischen HES-Lösung (MW 200.000 Da, DS 0,62) oder einer nicht-balancierten hyperonkotischen HES-Lösung (MW 200.000 Da, DS 0,5) im Verlauf anhand der *prothrombin time*, der aPTT und des FVIII gemessen wurden [137]. Die Ergebnisse dieser Studie wurden allerdings nicht unter dem Gesichtspunkt der HES-Konzentration, sondern des Substitutionsgrades dargestellt und diskutiert.

Im Vergleich zur Ausgangsmessung war der Quick-Wert am Tag 10 nach Infusion der isoonkotischen HES-Präparation niedriger, in der Gruppe der HES 10 % jedoch fast unverändert (detaillierte numerische Angaben zu den Messergebnissen oder signifikanten Unterschieden zwischen den Gruppen fehlen). In der Gruppe der HES 6 %-Lösung konnten, verglichen mit der Ausgangsmessung, am Tag 5 signifikant verlängerte aPTT- und am Tag 7 signifikant niedrigere Faktor VIII-Werte gemessen werden. Für die Gruppe der HES 10 %-Lösung wurden keine signifikanten Änderungen von aPTT oder FVIII beschrieben [137]. Diese Ergebnisse zeigen nach Infusion einer isoonkotischen verglichen mit einer hyperonkotischen HES-Lösung eine stärkere Beeinträchtigung der Blutgerinnung gemessen anhand der konventionellen Laborparameter *in vivo*. Als Limitation dieser Arbeit wurde jedoch der effektiv unterschiedliche Dilutionsgrad durch differierende Volumeneffekte, sichtbar am unterschiedlichen Hämatokrit, und die verschiedenen effektiven HES-Serumkonzentrationen nicht berücksichtigt.

Strauss et al. publizierten eine *in vivo*-Studie, in der 24 gesunden Probanden in zwei Gruppen einmalig 90 g Hydroxyethylstärke (HES) infundiert wurden [124]. In der ersten Gruppe wurden 1500 ml einer 6% HES, MW 450.000 - 670.000 Da, DS 0,7, in der zweiten Gruppe 900 ml einer 10 % HES, MW 264.000 Da, DS 0,45 appliziert. Um gleiche Volumina zu erhalten, wurden in der zweiten Gruppe zusätzlich 600 ml einer 0,9-prozentigen Natriumchloridlösung verabreicht. Über einen Zeitraum von 70 Tagen

wurden u.a. die *prothrombin time* als Quick-Wert-Äquivalent, die partielle Thromboplastinzeit (PTT) und FVIII bestimmt.

Bezogen auf die Ausgangswerte war nach HES-Infusion der Anstieg der *prothrombin time* und der PTT sowie der Abfall der FVIII-Werte in beiden Gruppen signifikant; zwischen den unterschiedlich konzentrierten HES-Lösungen ließen sich signifikante Unterschiede im Sinne einer stärker beeinträchtigten Gerinnung für die PTT und für FVIII nach Infusion der isoonkotischen Präparation beobachten [124]. Limitierend für die Aussage dieser Studie ist die Verwendung zweier HES-Präparationen, die sich sowohl in der Molekülmasse, als auch dem Substitutionsgrad und der HES-Konzentration unterschieden [124], so dass nicht ausgeschlossen werden kann, dass auch die höhere Molekülmasse und der höhere Substitutionsgrad der 6-prozentigen HES eine Rolle für den stärkeren Abfall von PTT und FVIII gespielt haben können.

Die Ergebnisse der vorliegenden *in vitro*-Studie für HES-Präparationen der dritten Generation zeigen eine stärkere Beeinträchtigung der Gerinnung gemessen mit konventionellen Gerinnungsparametern durch eine isoonkotische (6-prozentige) HES-Lösung und sind damit im Einklang mit den von Treib et al. und Strauss et al. beschriebenen *in vivo*-Studien mit älteren HES-Generationen [124, 137]. Ein möglicher zugrunde liegender Mechanismus im Sinne eines Messartefakts lässt sich aus *in vitro* Studien zur Fibrinogenbestimmung ableiten:

Adam et al. konnten in einer *in vitro*-Hämodilutionsstudie zum Einfluss unterschiedlicher HES-Lösungen auf die Plasmafibrinogenbestimmung in Abhängigkeit von der Bestimmungsmethode (turbidimetrisch versus koagulometrisch) differente Ergebnisse zeigen. Untersucht wurden 33- und 50-prozentige Dilutionen mit drei verschiedenen HES-Präparationen: 6 % HES, MW 70.000 Da, DS 0,5, 6 % HES, MW 450.000 Da, DS 0,7 und 10 % HES, MW 200.000 Da, DS 0,5. Während in den unverdünnten Proben die Fibrinogenkonzentration unabhängig von der Messmethode vergleichbar war, führte die turbidimetrische, d.h. optische, Bestimmung mit steigendem Dilutionsgrad zu höheren Werten als rechnerisch durch den Dilutionsgrad zu erwarten war. Die koagulometrisch, d.h. mechanisch, gemessenen Werte dagegen waren vergleichbar zu den rechnerisch ermittelten [4].

Gelöste Hydroxyethylstärke ist ein flüssiges, polydisperses Kolloid [147]. Eine die Kolloide definierende Eigenschaft ist die Lichtstreuung [13]. Sichtbar wird eine Trübung

des Plasmas, die bei turbidimetrischer Bestimmung von Laborparametern zu Verfälschungen im Sinne zu niedrig gemessener Gerinnungsbeeinträchtigung führen kann [42]. Auf dieser Tatsache beruhende Messartefakte, d.h. turbidimetrisch falsch-hoch gemessene Fibrinogenwerte nach *in vitro*-Hämodilution mit HES-Lösungen, wurden auch im Vergleich kolloidaler und kristalloider Lösungen beschrieben [38, 53].

Die von Adam et al. optisch bestimmten Fibrinogenspiegel waren im Fall der 10-prozentigen HES-Präparation höher als bei den beiden 6-prozentigen Lösungen [4]. Die Autoren diskutierten die höheren Abweichungen als Effekt der HES-Konzentration [4].

In der vorliegenden Studie wurden sowohl der Quick-Wert als auch die aPTT und der Faktor VIII turbidimetrisch, d.h. optisch, gemessen. Im Gegensatz zu der Studie von Adam et al. [4] sind die untersuchten HES-Präparationen hinsichtlich Molekülmasse und Substitutionsgrad identisch, so dass nicht ausgeschlossen werden kann, dass die signifikanten Unterschiede zwischen den iso- und hyperonkotischen HES-Lösungen ein von der HES-Konzentration abhängiges Messartefakt sind.

#### **4.1.1.2 Einfluss der HES-Konzentration auf die Laborparameter des von-Willebrand-Systems**

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigten für das vWF-Antigen als quantitativer Nachweis des von-Willebrand-Faktors (vWF) in keiner Dilutionsstufe signifikante Unterschiede nach *in vitro*-Hämodilution mit iso- und hyperonkotischen Präparationen. Die funktionelle vWF-Aktivität war gemessen mittels vWF-Collagenbindungsaktivität nach Hämodilution mit der 10-prozentigen Präparation bei den nicht-balancierten Lösungen in der 40-prozentigen Dilutionsstufe signifikant vermindert. Gemessen mittels Gplb-Bindung (vWF-Aktivität) war die funktionelle vWF-Aktivität der 10-prozentigen Lösung bei den Elektrolyt-balancierten Lösungen in der 60-prozentigen Dilutionsstufe signifikant vermindert.

Publikationen, die moderne iso- und hyperonkotische HES-Lösung der dritten Generation vergleichen, liegen bisher nicht vor. Ergebnisse aus zwei *in vivo*-Studien existieren für ältere HES-Generationen; diese sind im Widerspruch zu den Ergebnissen der vorliegenden Studie.

In der von Treib et al. publizierten *in vivo*-Studie zu den Effekten einer zehntägigen Infusion einer nicht-balancierten isoonkotischen HES-Lösung (MW 200.000 Da, DS

0,62) bzw. einer nicht-balancierten hyperonkotischen HES-Lösung (MW 200.000 Da, DS 0,5) sind im Verlauf auch das vWF-Antigen und der vWF-Ristocetin-Cofaktor (vWF:RCo) bestimmt worden [137]. Das vWF-Antigen fiel im Vergleich zur Ausgangsmessung nach der Infusion unabhängig von der verwendeten HES-Lösung signifikant ab, der vWF:RCo nur im Fall der 6-prozentigen HES-Lösung. Anhand der in der Publikation abgebildeten Grafiken lassen sich stärker ausgeprägte Beeinträchtigungen des von-Willebrand-Systems nach Infusion der 6-prozentigen HES-Lösung vermuten, jedoch wurden keine numerischen Angaben zu signifikanten Unterschieden zwischen der 6- und der 10-prozentigen HES-Präparation gemacht [137].

In der von Strauss et al. publizierten *in vivo*-Studie wurden nach Infusion von 90 g HES, gelöst in einer iso- (MW 450.000 - 670.000 Da, DS 0,7) bzw. einer hyperonkotischen (MW 264.000 Da, DS 0,45) HES-Präparation, auch vWF-Antigen und vWF-Ristocetin-Cofaktor (vWF:RCo) bestimmt. Die Werte beider Laborparameter fielen nach der HES-Infusion signifikant unter die Ausgangswerte ab; sowohl für vWF-Antigen als auch für vWF:RCo war der Abfall nach Hämodilution mit der isoonkotischen Präparation signifikant stärker ausgeprägt [124].

Für HES der zweiten Generation (MW 200.000 Da, DS 0,5) wurde gegenüber der in der in dieser Arbeit verwendeten HES (MW 130.000 Da, DS 0,4) in einer 2008 publizierten gepoolten Analyse mehrerer *in vivo*-Studien eine stärkere Beeinflussung, d.h. niedrigere Werte, des vWF-Antigens und der mittels vWF:RCo gemessenen funktionellen Aktivität beschrieben [77]. Die in der Studie von Strauss et al. [124] verwendeten Lösungen enthielten mit  $MW \geq 264.000$  Da ebenfalls HES-Moleküle höherer Molekülmasse als moderne Lösungen der dritten Generation (MW 130.000 Da). Da sowohl für das vWF-Antigen als auch die funktionelle vWF-Aktivität von Jamnicki et al. im Vergleich zweier Zweitgenerations-HES unterschiedlicher Molekülmasse eine stärkere Beeinflussung durch eine höhere HES-Molekülmasse in einer *in vivo*-Hämodilutionsstudie [64] beschrieben wurde, könnte die geringere Beeinträchtigung des von-Willebrand-Systems durch moderne HES mit niedrigerer Molekülmasse (MW 130.000 Da, DS 0,4 bzw. 0,42) eine Erklärung für die unterschiedlichen Ergebnisse dieser Untersuchung zu denen von Treib et al. [137] und Strauss et al. [124] sein. Des Weiteren muss die methodische Limitierung der Vergleichbarkeit von *in vitro*- mit *in vivo*-Daten berücksichtigt werden.

#### **4.1.1.3 Zusammenfassung: Einfluss der HES-Konzentration auf konventionelle Laborparameter**

Für hyperonkotische Präparationen konnte im Vergleich zu isoonkotischen Lösungen der modernen Drittgenerations-HES vergleichbaren Substitutionsgrades eine signifikant geringere Beeinträchtigung der Gerinnung gemessen anhand der Laborparameter Quick-Wert, aPTT und Faktor VIII gezeigt werden. Dies ist im Einklang mit den für ältere HES-Generationen publizierten Daten.

In Bezug auf das von-Willebrand-System zeigen die vorliegenden Ergebnisse bei Verwendung einer modernen, mittelmolekularen 10-prozentigen versus 6-prozentigen HES keine Unterschiede in der Menge des von-Willebrand-Faktors. Lediglich die funktionelle Aktivität war in zwei von 12 Vergleichen mit Vorteil für die 6-prozentige HES signifikant unterschiedlich. Die Ergebnisse dieser *in vitro*-Studie können für moderne mittelmolekulare, niedrigsubstituierte HES keinen Vorteil einer 6- oder 10-prozentigen HES in Hinblick auf die Beeinträchtigung des von-Willebrand-Systems belegen.

#### **4.1.2 Einfluss der HES-Konzentration auf die Thrombelastometrie**

Abhängig von der HES-Konzentration waren in einzelnen Dilutionsstufen die Gerinnungszeit (*engl. Coagulation Time, CT*) und die Gerinnselbildungszeit (*engl. Clot Formation Time, CFT*) im EXTEM-Test nach Dilution mit den hyperonkotischen HES-Präparationen im Vergleich zu den isoonkotischen Lösungen verlängert, und die Gerinnselhaftigkeit (*engl. Maximum Clot Firmness, MCF*) war sowohl im EXTEM- als auch im FIBTEM-Test vermindert.

##### **4.1.2.1 Einfluss der HES-Konzentration auf die Thrombelastometrieparameter CT, CFT und MCF**

Die Gerinnungszeit CT ist vergleichbar mit den konventionellen Laborparametern aPTT und Quick-Wert und stellt die für die Thrombinbildung notwendige Zeit dar [80]. Die Gerinnselbildungszeit CFT bildet die Geschwindigkeit der Fibrininformation und -quervernetzung auf der Oberfläche von Thrombozyten ab [80]. Eine Hämodilution mit konsekutiver Verdünnung aller vorhandener Gerinnungsfaktoren sowie der Thrombozyten kann zu Verlängerungen der CT und CFT führen [59].



Die Gerinnselfestigkeit ist hauptsächlich abhängig von Fibrinogen, Thrombozytenzahl und Faktor XIII [90, 102]. Im EXTEM-Test der Thrombelastometrie spielen alle drei Faktoren für die maximale Clotfestigkeit (MCF) eine Rolle, für die MCF im FIBTEM-Test nach Inaktivierung der Thrombozyten nur Fibrinogen und Faktor XIII [80]. Mit steigender Hämodilution tritt eine Verdünnung der genannten Faktoren auf, mit der eine Verminderung der Gerinnselfestigkeit einhergehen kann [61, 80].

Die dilutionsgradabhängige zunehmende Verlängerung der CT und CFT sowie die Verminderung der Gerinnselfestigkeit können durch die Hämodilution allein erklärt werden. Die im Vergleich zur isoonkotischen Präparation gleicher Trägerlösung stärkere CT- und CFT-Verlängerung und die MCF-Verminderung nach *in vitro*-Hämodilution mit der hyperonkotischen Präparation innerhalb einzelner Dilutionsstufen könnte dagegen ein Effekt der HES-Konzentration sein, da dies die einzige unterschiedliche Variable war. Dieses Phänomen wurde in der Literatur bereits für ältere HES-Lösungen beschrieben [33, 102, 122], die Ergebnisse sind jedoch durch Verwendung von älteren HES-Generationen, Untersuchung anderer Dilutionsstufen und/oder Verwendung einer nicht-aktivierten Thrombelastographie nur eingeschränkt mit den Ergebnissen dieser Arbeit vergleichbar. Vergleichbare *in vitro*-Ergebnisse mit der Gegenüberstellung einer modernen iso- und hyperonkotischen HES-Lösung der dritten Generation sind bisher nicht publiziert worden.

Petroianu et al. publizierten eine *in vitro*-Hämodilutionsstudie, in der Citratblut im Verhältnis 10:2, 10:4 und 10:10 mit verschiedenen Kolloiden verdünnt und mittels nicht-aktivierter Thrombelastographie untersucht wurde. Drei dieser Kolloide waren HES-basiert (MW 200.000 Da, DS 0,5): je eine 3-, 6- und 10-prozentige HES-Lösung [102]. Dilutionsgradabhängig wurde eine Verlängerung der CT-, CFT- und MCF-Äquivalente (*reaction time* entspricht CT, *coagulation time* entspricht CFT, *maximum amplitude* entspricht MCF [86]) beschrieben. Im Vergleich der drei HES-Lösungen verlängerten sich die *reaction time* und die *coagulation time* innerhalb einer Dilutionsstufe mit steigender HES-Konzentration, während die *maximum amplitude* abnahm. Signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Konzentrationen der HES-Lösungen wurden nicht beschrieben, auch wenn für die 10 % HES eine stärkere Beeinträchtigung der Gerinnung verglichen mit den niedriger konzentrierten HES-Lösungen (3 % bzw. 6 % HES) beschrieben wurde [102].

Ekseth et al. publizierten eine *in vitro*-Hämodilutionsstudie, in der die Effekte einer 6- und einer 10-prozentigen HES-Lösung in den Dilutionsstufen 10 %, 20 %, 40 %, 50 % und 60 % mittels nicht-aktivierter Thrombelastometrie untersucht wurden. Für die beiden HES-Präparationen ist die Molekülmasse mit 200.000 Da angegeben worden, Angaben zum Substitutionsgrad fehlten. Im Vergleich der beiden HES-Lösungen war die *reaction time* der 10-prozentigen Präparation in den Dilutionsstufen 10 %, 20 % und 60 %, und die *coagulation time* in allen Dilutionsstufen länger als bei der vergleichbaren isoonkotischen Lösung. Die *maximum amplitude* war nach Dilution mit der 10-prozentigen HES-Präparation in allen Dilutionsstufen kleiner. Signifikant waren die Unterschiede bei dem festgelegten Signifikanzniveau ( $p$ -Wert < 0,0033) nicht [33].

Sossdorf et al. publizierten eine *in vitro*-Hämodilutionsstudie, in der eine isoonkotische HES-Präparation der dritten Generation (MW 130.000 Da, DS 0,4) und eine hyperonkotische HES-Lösung der zweiten Generation (MW 200.000 Da, DS 0,5) verglichen wurden. Eine im Trend ausgeprägtere, wenn auch nicht signifikante Verlängerung der CT und CFT sowie eine ebenfalls nicht signifikante Verminderung der MCF konnte in einer 10- und einer 40-prozentigen Dilution für die hyperonkotische HES-Lösung gezeigt werden [122].

Der Trend aller genannten *in vitro*-Studien ist wie in der vorliegenden Arbeit eine durch 10-prozentige HES stärkere Beeinträchtigung des Gerinnselaufbaus und der -festigkeit gemessen mittels CT, CFT und MCF bzw. derer Äquivalente. Dieses Ergebnis trifft auch auf die modernen, mittelmolekularen und niedrigsubstituierten HES-Lösungen zu, so dass diese in dieser Richtung keinen Vorteil darstellen.

Ein Erklärungsansatz für die im Vergleich zu isoonkotischen Präparationen längere CFT und geringere MCF durch die hyperonkotische HES-Lösung könnte in der Verminderung des Fibronektinspiegels zu suchen sein, der in einer *in vivo* Studie für eine hyperonkotische Präparation (MW 200.000 Da, DS 0,62) im Trend stärker ausgeprägt war als bei einer vergleichbaren isoonkotischen HES. Jedoch fehlen Angaben zu signifikanten Unterschieden im Vergleich der beiden HES-Konzentrationen [138]. Fibronektine sind Plasmaproteine, die an der Fibrinquervernetzung und Thrombozytenaggregation beteiligt sind [21], so dass die beobachtete stärkere Ausprägung der CFT-Verlängerung bei hyperonkotischer HES-Lösung auf eine stärkere Fibrinpolymerisationstörung zurückzuführen sein könnte.

#### 4.1.2.2 Einfluss der HES-Konzentration auf den sekundären Thrombelastometrie-parameter $MCF_{Pit}$

Die vorliegende Studie zeigte für hyperonkotische HES-Lösungen in der 60-prozentigen Dilutionsstufe einen signifikant niedrigeren ( $n_{balHES}$ ) bzw. im Trend niedrigeren ( $balHES$ ) thrombozytären Anteil an der Gerinnselfestigkeit ( $MCF_{Pit}$ ). Die  $MCF_{Pit}$  wird durch die Thrombozytenzahl und die Thrombozytenfunktion beeinflusst [80, 99]. Da in der vorliegenden Arbeit die HES-Konzentration keine Unterschiede in der Thrombozytenzahl herbeiführte, könnte die stärkere Beeinflussung der  $MCF_{Pit}$  ein Effekt der HES-Konzentration auf die Thrombozytenfunktion, speziell der Thrombozyten-Fibrinogen-Interaktion, sein.

Eine Reduktion der für die Fibrinogenbindung relevanten Thrombozytenrezeptoren GpIIb/IIIa durch isoonkotische, nicht-balancierte HES-Lösungen (MW 200.000 Da, DS 0,5 und MW 130.000 Da, DS 0,4) wurde von Chen et al. [20] beschrieben. Die Dosisabhängigkeit dieser Reduktion, d.h. eine größere Reduktion des GpIIb/IIIa-Rezeptors mit steigender HES-Konzentration, wurde von Stöger Müller et al. gezeigt [123]. In jener *in vitro*-Hämodilutionsstudie war die Expression des GpIIb/IIIa-Rezeptors nach Dilution mit einer nicht-balancierten 6% HES-Lösung (MW 200.000 Da, DS 0,6) dosisabhängig vermindert, während gleiche Dilutionsgrade mit einem nicht-balancierten Kristalloid zu keiner Verminderung der Rezeptorexpression führten. Die Schlussfolgerung war eine HES-spezifische, konzentrationsabhängige Thrombozyten-funktionsstörung. Durch das Studiendesign, in dem höhere HES-Konzentrationen durch höhere Dilutionsgrade erzeugt wurden, lassen sich zusätzliche, dilutionsbedingte Faktoren, wie z.B. eine geringere Thrombozytenzahl, nicht ausschließen. Im Gegensatz dazu lässt sich anhand der  $MCF_{Pit}$  in der vorliegenden Studie auch innerhalb einer Dilutionsstufe eine stärkere Thrombozytenbeeinträchtigung durch eine höhere HES-Konzentration (10 % vs. 6 %) vermuten.

Der Mechanismus der Interaktion von HES mit dem Thrombozytenoberflächenrezeptor GpIIb/IIIa ist nicht vollständig geklärt. Es wird ein sogenanntes „Thrombozyten-Coating“ durch HES-Moleküle diskutiert, d.h. eine Bindung der HES-Moleküle am Thrombozyten, die über noch nicht vollständig geklärte Mechanismen die Verfügbarkeit der Rezeptoren herabsetzt [40, 75]. Deusch et al. konnten in einer *in vitro*-Hämodilutionsstudie mittels fluoreszenzbasierter Durchflusszytometrie eine Bindung von HES-Molekülen an

Thrombozyten nachweisen [30]. In dieser Studie wurden mit einer isoonkotischen, Fluoreszenz-gelabelten HES-Lösung (MW 200.000 Da, DS 0,5) sechs Dilutionen mit steigendem Dilutionsgrad hergestellt und mittels Durchflusszytometrie untersucht. Mit steigendem Dilutionsgrad und damit steigender HES-Konzentration in der Probe nahm der Prozentsatz fluoreszierender Thrombozyten zu. Im Vergleich zur unverdünnten Kontrolle war dies bereits ab der 10-prozentigen Dilution signifikant. Eine direkte Bindung der HES-Moleküle am GpIIb/IIIa-Rezeptor konnte durch Präinkubation der Thrombozyten mit einem GpIIb/IIIa-Rezeptorinhibitor vor der Dilution mit Hydroxyethylstärke ausgeschlossen werden, so dass der genaue Bindungsmechanismus unklar blieb [30].

#### **4.1.2.3 Zusammenfassung: Einfluss der HES-Konzentration auf die Thrombelastometrie**

Bei noch nicht vollständiger Klärung der zugrunde liegenden Mechanismen der Thrombozyten-HES-Interaktion bestätigt die vorliegende Studie auch für moderne hyperonkotische Lösungen eine im Vergleich zu isoonkotischen Lösungen stärkere Ausprägung der HES-induzierten Koagulopathie mit einer ausgeprägteren Fibrinogen-/Fibrinpolymerisationsstörung in der Thrombelastometrie. Die Ergebnisse dieser *in vitro*-Hämodilutionsstudie sind im Einklang mit den bereits für hyperonkotische HES-Lösungen älterer Generationen publizierten Daten.

Damit reproduziert die vorliegende Studie für 10-prozentige HES die Diskrepanz zwischen weniger starker Beeinträchtigung turbidimetrisch gemessener konventioneller Laborparameter, aber stärker ausgeprägter Beeinträchtigung in der Gerinnelbildung und -festigkeit anhand der Thrombelastometrieparameter auch für moderne, mittelmolekulare und niedrigrsubstituierte HES-Lösungen.

## **4.2 Einfluss der Trägerlösung der HES-Präparation**

### **4.2.1 Einfluss der Trägerlösung der HES-Präparation auf die Laborparameter**

Der Vergleich der Trägerlösungen zeigte signifikante Unterschiede zugunsten der Elektrolyt-balancierten HES-Lösungen bei den konventionellen Laborparametern ionisiertes Calcium, Faktor VIII, aPTT, Quick-Wert und den gemessenen vWF-Parametern vWF:Ag und vWF:CBA in einzelnen Dilutionsstufen.

#### 4.2.1.1 Einfluss der Trägerlösung der HES-Präparation auf das ionisierte Calcium

Calcium liegt im Blut in drei Formen vor: als biologisch aktives, freies bzw. ionisiertes Calcium, zu 30 - 50 % gebunden an Proteine, hauptsächlich Albumin, und zu 5 - 15 % in Komplexverbindungen mit anderen Anionen [93]. Ionisiertes Calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ), das auch als Blutgerinnungsfaktor IV bezeichnet wird [7], hat eine essentielle Rolle in der Gerinnungskaskade [9]; eine Hypocalcämie wird mit einer Hypokoagulabilität [83] bzw. eine Hypercalcämie mit einer Hyperkoagulabilität assoziiert [54].

Die Hemmung der Gerinnung in Citratblut ist auf die Komplexbildung der Citrat- und Calciumionen zurückzuführen [100]. Bei der Bestimmung konventioneller Laborparameter und der Thrombelastometrie wird Citratblut durch eine standardisierte Zugabe von Calcium recalcifiziert [9, 81]. In einem Citratblut-basierten Hämodilutionsmodell würde der absolute Citratgehalt bei Verwendung nativer, d.h. nicht-citratsubstituierter, Dilutionslösungen abfallen, die standardisierte Recalcifizierung würde konsekutiv zu einem Calciumüberschuss führen. Diese relative Hypercalcämie, d.h. höhere Calciumspiegel als in Dilutionen mit citratsubstituierten Lösungen, wäre mit steigendem Dilutionsgrad stärker ausgeprägt. Durch Verwendung citratsubstituierter Dilutionslösungen dagegen kann der Citratgehalt über alle Dilutionsgrade konstant gehalten werden.

Bei der Hämodilution werden sämtliche Blutbestandteile verdünnt und damit relativ vermindert – auch Ionen wie das in den Citratblutproben noch vorhandene nicht-citratgebundene  $\text{Ca}^{2+}$ . Die Ergebnisse dieser *in vitro*-Studie zeigen einen signifikant höheren Gehalt an vor Recalcifizierung gemessenen  $\text{Ca}^{2+}$  in den Elektrolyt-balancierten Dilutionen.

Die in Abhängigkeit der verwendeten Trägerlösung beobachteten Unterschiede des  $\text{Ca}^{2+}$  in dieser Studie erklären sich damit, dass im Fall der nicht-balancierten HES-Lösungen mit zunehmendem Dilutionsgrad der  $\text{Ca}^{2+}$ -Abfall als Ausdruck der reinen Verdünnung des in den Blutproben vorhandenen  $\text{Ca}^{2+}$  zu beobachten ist. Im Fall der Elektrolyt-balancierten HES-Lösungen tritt diese Verdünnung ebenfalls auf, allerdings übersteigt die  $\text{Ca}^{2+}$ -Zufuhr durch die calciumhaltige Trägerlösung die Dilution, so dass die  $\text{Ca}^{2+}$ -Spiegel mit zunehmendem Dilutionsgrad ansteigen.

In Anbetracht der Schlüsselrolle ionisierten Calciums, welches annähernd an jedem Prozess der Gerinnungsfaktorenaktivierung beteiligt ist [9, 54, 83], könnten die

beobachteten signifikanten  $\text{Ca}^{2+}$ -Unterschiede, wie im Folgenden diskutiert, einen Effekt auf die Ergebnisse der konventionellen Laborparameter haben.

#### 4.2.1.2 Einfluss der Trägerlösung der HES-Präparation auf FVIII

In der vorliegenden Arbeit wurden nach moderater und schwerer *in vitro*-Hämodilution mit Elektrolyt-balancierten HES-Lösungen signifikant höhere relative Faktor VIII-Werte als nach Dilution mit vergleichbaren nicht-balancierten Lösungen gemessen.

In dieser Studie lagen für die Dilutionen unabhängig von der Dilutionslösung, anhand des Hämatokrits nachgewiesen, vergleichbare Dilutionsgrade vor. Eine ungleiche Dilution des vorhandenen FVIII ist somit unwahrscheinlich. Eine mögliche Erklärung für die höheren  $\text{FVIII}_{\text{rel}}$ -Werte nach *in vitro*-Hämodilution mit Elektrolyt-balancierten HES-Lösungen könnte in der Stabilitätsabhängigkeit des FVIII sowohl vom von-Willebrand-Faktor als auch von  $\text{Ca}^{2+}$  liegen [110, 128, 145]:

In der vorliegenden Studie wurde für die relativen Messwerte des vWF-Antigens als quantitative Bestimmung des vWF kein signifikanter Unterschied innerhalb der Dilutionsstufen, in denen signifikant unterschiedliche  $\text{FVIII}_{\text{rel}}$ -Messwerte auftraten, gemessen. Es ist damit unwahrscheinlich, dass die höheren FVIII-Spiegel mit der Stabilitätsabhängigkeit des FVIII vom vWF erklärt werden können.

Rock et al. beschrieben eine Assoziation der FVIII-Spiegel und des Gehalts an ionisiertem Calcium: Je höher das  $\text{Ca}^{2+}$  in Citratvollblut war, desto höher waren die FVIII-Werte in den daraus hergestellten Plasmaproben [109]. Fay wies nach, dass die Rekonstitution des heterodimeren FVIII aus zuvor getrennten, gereinigten leichten und schweren Ketten vom ionisierten  $\text{Ca}^{2+}$  abhängt [37]. Takeyama et al. konnten eine Inaktivierung von FVIII durch  $\text{Ca}^{2+}$ -Mangel [127] sowie die Schutzfunktion des vWF auf die Calcium-Bindungsstelle der leichten FVIII-Kette [128] nachweisen.

Vor dem Hintergrund der Bedeutung ionisierten Calciums für die Stabilität von FVIII und den vor Recalcifizierung gemessenen signifikant höheren  $\text{Ca}^{2+}$ -Spiegeln in den Dilutionen mit Elektrolyt-balancierten HES-Präparationen könnte die nachgewiesene Faktor VIII-Erhöhung ein Calciumeffekt sein, der z.B. durch eine höhere Stabilität des FVIII in den mit calciumhaltigen Lösungen verdünnten Proben verursacht sein könnte.

Vergleichbare *in vitro*-Studien sind zum Zeitpunkt der Entstehung dieser Arbeit nicht publiziert. In einer *in vivo*-Studie konnten Gan et al. kontrovers zu den Ergebnissen

dieser Studie mit nicht-balancierten versus calciumhaltigen, Elektrolyt-balancierten HES-Präparationen der ersten Generation unabhängig von der Trägerlösung keine signifikanten Änderungen der FVIII-Spiegel vor und nach HES-Infusion belegen [45]. Für diese Diskrepanz kommen mehrere Erklärungsansätze in Betracht: In der vorliegenden Arbeit ließen sich nach 20-prozentiger Hämodilution keine Unterschiede zwischen den beiden Trägerlösungen zeigen. In der von Gan et al. publizierten Studie ist der effektive Dilutionsgrad der Gerinnungsfaktoren nicht über den Hämatokrit bestimmbar, da im Mittel jeder Patient neben Hydroxyethylstärke kristalloide Volumenersatzmittel, Erythrozyten- und Thrombozytenkonzentrate sowie Plasmaprodukte entsprechend dem Studienprotokoll erhalten hat [45]. Es lässt sich daher nicht ausschließen, dass in der Studie von Gan et al. der Dilutionsgrad unterhalb der 40 % liegt, bei der in der vorliegenden Arbeit ein signifikanter Unterschied gesehen wurde. Des Weiteren wurden die Calciumspiegel in der Studie von Gan et al. zusätzlich zu der Trägerlösung sowohl durch die Gabe von citrathaltigen Plasmaprodukten, als auch durch Calciumsubstitution beeinflusst.

#### **4.2.1.3 Einfluss der Trägerlösung der HES-Präparation auf aPTT und Quick-Wert**

In der vorliegenden Studie wurde für die nicht-balancierte Trägerlösung bei den isoonkotischen HES-Präparationen eine tendenziell längere aPTT nach 40-prozentiger, eine signifikant längere aPTT nach 60-prozentiger Hämodilution gezeigt.

In einer *in vitro*-Hämodilutionsstudie zu nicht-balancierten versus Elektrolyt-balancierten HES-Lösungen der ersten Generation (MW 450.000 Da, DS 0,7) zeigten Dailey et al. bei einem Dilutionsgrad von 30 % zwischen beiden Gruppen keine statistisch unterschiedlichen aPTT-Werte [26]. Signifikante Unterschiede bei aPTT und Quick der mit nicht-balancierten bzw. Elektrolyt-balancierten HES-Präparationen hergestellten Dilutionen traten in der vorliegenden Arbeit in höheren Dilutionsgraden auf, so dass der Effekt der Trägerlösung bei niedrigen Dilutionsgraden möglicherweise nicht messbar ist.

In einer *in vitro*-Studie von Casutt et al. wurden eine nicht-balancierte 6% HES (MW 130.000 Da, DS 0,4) und eine Elektrolyt-balancierte 6 % HES (MW 130.000 Da, DS 0,42) in den Dilutionsstufen 33 % und 66 % untersucht [19]. Die konventionellen Parameter prothrombin time und aPTT zeigten verglichen mit den Baseline-Werten verlängerte Werte nach *in vitro*-Hämodilution, jedoch fehlen detaillierte Angaben zum

direkten Vergleich der Trägerlösungen, so dass die Ergebnisse von Casutt et al. nur eingeschränkt mit der vorliegenden Studie verglichen werden können.

Im Gegensatz zu den in dieser Arbeit vorgestellten Ergebnissen wurde von Gan et al. in einer *in vivo*-Studie kein Unterschied der aPTT-Werte nach Infusion von HES-Lösungen in calciumhaltiger Elektrolyt-balancierter Trägerlösung versus nicht-balancierter Trägerlösung publiziert [45].

Die aPTT ist sensitiv für einen Mangel an Gerinnungsfaktoren mit Ausnahme der Faktoren VII und XIII. Ein Faktor VIII-Spiegel unter 30 % führt zu einer Verlängerung der aPTT [9]. Die Faktoren V und VIII sind in ihrer Strukturintegrität calciumabhängig [127]. Für Faktor VIII konnten in dieser Studie signifikant höhere Spiegel nach Hämodilution mit einer Elektrolyt-balancierten Trägerlösung nachgewiesen werden. Die höheren Spiegel calciumabhängiger Faktoren in den mit Elektrolyt-balancierten Präparationen verdünnten Proben könnten die Erklärung für die geringeren aPTT-Werte nach Hämodilution mit der Elektrolyt-balancierten 6-prozentigen HES-Präparation sein. Ungeklärt ist, warum bei den 10-prozentigen HES-Lösungen dieser Unterschied nicht auftritt und ob dies bei turbidimetrischer Bestimmung der aPTT mit der HES-konzentrationsbedingten höheren Lichtstreuung zusammenhängen könnte.

In Hinblick auf die Trägerlösung konnte die hier vorgestellte Studie darüber hinaus bei Verwendung einer Elektrolyt-balancierten Präparation signifikant höhere Quick-Werte in jeder untersuchten (6 % HES) bzw. in der 40- und 60-prozentigen Dilutionsstufe (10 % HES) nachweisen.

Vergleichbare *in vitro*-Studien, die ebenfalls mittelmolekulare niedrigsubstituierte HES und deren Trägerlösung untersuchen, sind bislang nicht publiziert. Analog zu den kontroversen Ergebnissen der aPTT wurden *in vivo* keine Unterschiede hinsichtlich der *prothrombin time* als Quick-Wert-Äquivalent nach Infusion von Lösungen in calciumhaltiger Elektrolyt-balancierter Trägerlösung versus nicht-balancierter Trägerlösung beschrieben [45].

Der Quick-Wert als Globalparameter der plasmatischen Gerinnung ist sowohl calcium- als auch Faktor V-abhängig [9]. Für Faktor V konnten Takeyama et al. analog zum Faktor VIII ebenfalls die Calciumabhängigkeit nachweisen [127]. Die in der vorliegenden Studie beschriebenen signifikant höheren  $\text{Ca}^{2+}$ -Spiegel bei Dilution mit balancierten



Trägerlösungen könnten möglicherweise direkt als Faktor IV und sekundär über den Faktor V für die signifikanten Unterschiede des Quick-Werts verantwortlich sein.

#### **4.2.1.4 Einfluss der Trägerlösung der HES-Präparation auf die Parameter des von-Willebrand-Systems**

Bezogen auf die verwendete Trägerlösung ließ sich für das vWF-Antigen als quantitativer Nachweis des vWF bei den isoonkotischen Präparationen ein nicht-signifikanter Trend zu höheren Werten bei Elektrolyt-balancierten Dilution beobachten. In der 20-prozentigen Dilutionsstufe bei den hyperonkotischen Präparationen wurde ein signifikanter Unterschied mit höheren Werten für die Elektrolyt-balancierte Präparation dargestellt.

Die vWF-Collagenbindungsaktivität war nach *in vitro*-Hämodilution mit den Elektrolyt-balancierten HES-Präparationen sowohl für die iso- als auch für die hyperonkotischen Präparationen im Trend niedriger; dieser Unterschied war in der 40-prozentigen Dilutionsstufe der hyperonkotischen HES-Lösungen signifikant.

Für die vWF-Aktivität ließen sich in keiner der Dilutionsstufen signifikante Unterschiede zwischen den beiden Trägerlösungen zeigen.

Vergleichbare *in vitro*-Ergebnisse zum Effekt auf das von-Willebrand-System einer nicht-balancierten bzw. Elektrolyt-balancierten iso- bzw. hyperonkotischen HES-Lösung der dritten Generation liegen bisher nicht vor. Ergebnisse einer *in vivo*-Studie existieren für die erste HES-Generation [45]; diese zeigten keinen Unterschied zwischen den Trägerlösungen isoonkotischer HES-Präparationen:

Eine mögliche Ursache für den Unterschied zwischen dem in dieser *in vitro*-Arbeit beobachteten ausgeprägten und dem von Gan et al. [45] beschriebenen *in vivo*-Abfall der vWF-Antigenspiegel könnte sowohl in einem niedrigeren effektiven Dilutionsgrad als auch im unterschiedlichen Studiendesign (*in vitro* vs. *in vivo*) liegen. Der Dilutionsgrad der Studie von Gan et al. ist, wie bereits erläutert, durch die Gabe von kristalloiden Volumenersatzmitteln, Erythrozyten- und Thrombozytenkonzentraten sowie Plasmaprodukten nur bedingt bestimmbar. Des Weiteren ist der vWF-Spiegel *in vivo* zusätzlich durch vWF-Freisetzung aus dem Endothel bei Stress, hormonalen Einwirkungen oder chirurgischer Eingriffen verändert [8], welches in *in vitro*-Untersuchungen nicht berücksichtigt werden kann.

Der Mechanismus für das in der vorliegenden Studie beobachtete höhere vWF-Antigen nach 20-prozentiger Hämodilution mit Elektrolyt-balancierter HES könnte möglicherweise auf die höheren  $\text{Ca}^{2+}$ -Spiegel zurückzuführen sein:

Bis zu 15 % des gesamten vWF wird in Megakaryozyten gebildet und in den  $\alpha$ -Granula der Thrombozyten gespeichert [25, 56, 78]. Die Freisetzung des thrombozytären vWF erfolgt nach Aktivierung der Thrombozyten und kann dosisabhängig durch Thrombin getriggert werden [74].

Die Bildung von Thrombin aus Prothrombin über den Prothrombinasekomplex ist sowohl direkt calciumabhängig [96, 105] als auch indirekt über Faktor V [127]. Bolliger et al. zeigten in einer Hämodilutionsstudie eine dilutionsgradabhängige Reduktion der Thrombingeneration [15]. Der gemessene signifikante  $\text{Ca}^{2+}$ -Unterschied nach 20-prozentiger *in vitro*-Hämodilution zwischen der nicht-balancierten und der Elektrolyt-balancierten HES-Lösung könnte zu einer verminderten Thrombingeneration, diese wiederum zu einer verminderten vWF-Freisetzung aus den Thrombozyten bei nicht-balancierter Trägerlösung führen. Bei den höheren Dilutionsstufen könnte die Verdünnung aller Gerinnungsfaktoren und der Thrombozyten für diesen Mechanismus zu ausgeprägt sein.

#### **4.2.1.5 Zusammenfassung: Einfluss der Trägerlösung der HES-Präparation auf konventionelle Laborparameter**

Die vorliegende *in vitro*-Hämodilutionsstudie konnte durch Verwendung einer Elektrolyt-balancierten im Vergleich zu einer nicht-balancierten Trägerlösung eine signifikant geringere Beeinflussung der konventionellen Laborparameter  $\text{Ca}^{2+}$ , Quick-Wert, aPTT und Faktor VIII und in einem Fall auch des vWF-Antigens zeigen. Diese Ergebnisse sind kontrovers zu denen einer *in vivo*-Studie, könnten jedoch möglicherweise durch  $\text{Ca}^{2+}$ -bedingte *in vitro*-Phänomene erklärt sein.

#### **4.2.2 Einfluss der Trägerlösung der HES-Präparation auf die Thrombelastometrie**

In der vorliegenden Arbeit konnte weder für isoonkotische (6 % HES), noch für hyperonkotische (10 % HES) Präparationen mittels aktivierter Thrombelastometrie eine geringer ausgeprägte Hypokoagulabilität durch Verwendung einer Elektrolyt-balancierten Trägerlösung nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse sind im Einklang

mit publizierten *in vitro*-Hämodilutionsstudien zum Effekt einer nicht-balancierten versus einer Elektrolyt-balancierten Trägerlösung von Drittgenerations-HES auf die aktivierte Thrombelastometrie [19, 84]:

Casutt et al. publizierten eine *in vitro*-Hämodilutionsstudie, für die Citratblut von 10 gesunden freiwilligen Probanden mittels aktivierter und nicht-aktivierter Thrombelastometrie in den Dilutionsstufen 33 % und 66 % untersucht wurde. Es ließ sich kein signifikanter Unterschied in den gemessenen TEM-Parametern CT, CFT, MCF und  $\alpha$ -Winkel zwischen einer nicht-balancierten, isoonkotischen HES (MW 130.000, DS 0,4) und einer Elektrolyt-balancierten, isoonkotischen HES (MW 130.000, DS 0,42) nachweisen [19].

Die von Lindroos et al. publizierte *in vitro*-Hämodilutionsstudie untersuchte mittels aktivierter Thrombelastometrie den Effekt auf die Gerinnung durch Kombinationen aus Kristalloiden und Kolloiden in den Dilutionsstufen 20 % und 40 %. Für diese Studie wurde Citratblut 12 gesunder, freiwilliger Probanden eingesetzt. Unter den untersuchten Kolloiden befanden sich auch eine nicht-balancierte und eine Elektrolyt-balancierte HES (MW 130.000 Da, DS 0,4) [84]. Die Elektrolyt-balancierte Trägerlösung der HES-Präparation war im Gegensatz zu der Studie von Casutt et al. [19] und der vorliegenden Studie  $\text{Ca}^{2+}$ -frei. Beide HES-Lösungen wurden jedoch mit  $\text{Ca}^{2+}$ -haltigen Kristalloiden im Verhältnis 1:1 kombiniert [84]. Während nach *in vitro*-Hämodilution eine Störung der Blutgerinnung für alle untersuchten Kolloide gezeigt werden konnte, ließ sich kein Unterschied in Abhängigkeit von der Trägerlösung demonstrieren. Eine detaillierte Beschreibung der statistischen Ergebnisse fehlt. Limitierend für die Aussagekraft dieser Studie ist die Kombination beider HES mit einer Elektrolyt-balancierten,  $\text{Ca}^{2+}$ -haltigen kristalloiden Lösung. Eine Aussage zum Effekt einer nicht-balancierten versus Elektrolyt-balancierten Trägerlösung lässt sich aus dieser Studie nicht ableiten [104].

In älteren Studien wurden bei Verwendung nicht-aktivierter Thrombelastographie kontroverse Ergebnisse zum Einfluss der Trägerlösung publiziert, die Vergleichbarkeit ist durch die Verwendung höhermolekularer HES-Lösungen und der nicht-aktivierten Thrombelastographie jedoch eingeschränkt:

Dailey et al. publizierten eine *in vitro*-Hämodilutionsstudie mit isoonkotischer, nicht-balancierter versus Elektrolyt-balancierter HES-Lösung (MW 450.000 Da, DS 0,7). Im Einklang mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie konnten nach 30 %

Hämodilution mittels Thrombelastographie keine signifikanten Unterschiede in den Parametern *reaction time*, *coagulation time* oder *maximum amplitude*, also den der CT, CFT und MCF entsprechenden Parametern [86], nachgewiesen werden. Für diese Studie wurde Blut von 30 gesunden, freiwilligen Probanden verwendet [26].

Roche et al. publizierten eine *in vitro*-Hämodilutionsstudie mit isoonkotischer, nicht-balancierter versus Elektrolyt-balancierter HES-Lösung (MW 550.000 Da, DS 0,7), in der mittels nicht-aktivierter Thrombelastographie dilutionsabhängig eine weniger stark ausgeprägte Beeinträchtigung der Thrombelastographie-Parameter durch eine Elektrolyt-balancierte HES-Präparation dargestellt wurde. Signifikante Unterschiede bestanden in der 40-prozentigen Dilution für die *reaction time*, in der 75-prozentigen Dilution für die *coagulation time*, und in der 60- und 75-prozentigen Dilution für die *maximum amplitude*. Für diese Studie wurde Blut von fünf gesunden, freiwilligen Probanden verwendet [108].

In einer anderen *in vitro*-Hämodilutionsstudie mit isoonkotischen, nicht-balancierten versus Elektrolyt-balancierten HES-Lösungen stellten Roche et al. ebenfalls mittels nicht-aktivierter Thrombelastographie dilutionsabhängig eine geringer ausgeprägte Gerinnungsstörung durch eine Elektrolyt-balancierte HES-Präparation dar, detaillierte Angaben zu signifikanten Unterschieden zwischen den Trägerlösungen fehlen. Untersucht wurden für diese Studie: nicht-balancierte HES (MW 450.000 Da, DS 0,6) versus balancierte HES (MW 670.000 Da, DS 0,7) sowie nicht-balancierte versus balancierte HES (MW 200.000 Da, DS 0,5) in den Dilutionsstufen 20 %, 40 % und 60 %. Für diese Studie wurde Blut von 10 gesunden Freiwilligen verwendet [107].

Im Gegensatz zur vorliegenden Studie wurden in den von Roche et al. [107, 108] und Dailey et al. [26] publizierten Studien Vollblut mit unbehandelten Dilutionslösungen verdünnt, und die entstandenen Dilutionen mittels nicht-aktivierter Thrombelastographie ohne Zusatz weiterer Gerinnungsaktivatoren untersucht. Die Dilutionsstufen, in denen in der von Roche et al. [108] publizierten Arbeit signifikante Unterschiede vorlagen, sind höher als in der von Dailey et al. publizierten Studie [26]. Mit steigendem Dilutionsgrad ist nach Verdünnung mit einer calciumhaltigen Elektrolyt-balancierten HES-Präparation der Gehalt an  $\text{Ca}^{2+}$  in der Dilution höher; die Werte von  $\text{Ca}^{2+}$  lagen ab einer 40-prozentigen Dilution für calciumhaltige Elektrolyt-balancierte HES oberhalb, für calciumfreie nicht-balancierte HES dagegen unterhalb des Referenzbereiches [107].

Der Einfluss einer Hypercalcämie auf die Gerinnung wurde von Hilgard mittels Thrombelastographie untersucht [54]. In einem Rattenmodell wurde iatrogen eine Hypercalcämie entweder durch intramuskuläre Implantation eines Walker 256-Tumors oder durch intraperitoneale Calciumglukonatinjektion initiiert. Mittels nicht-aktivierter Thrombelastographie zeigte Hilgard im Vergleich zu normocalcämen Ratten eine Hyperkoagulabilität; diese wurde als Ausdruck einer möglichen Kontaktaktivierung durch das ionisierte Calcium diskutiert [54]. Eine Hypokoagulabilität in der Thrombelastometrie durch eine Hypocalcämie dagegen zeigten James et al. in einer systematischen *in vitro*-Untersuchung zum Einfluss unterschiedlicher  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentrationen auf die Thrombelastometrie [63].

Im Einklang mit den von Dailey et al. [26], Lindroos et al. [84] und Casutt et al. [19] publizierten und den in der vorliegenden Arbeit dargestellten Ergebnissen konnten Gan et al. in einer *in vivo*-Studie [45] keinen signifikanten Vorteil der HES-induzierten Koagulopathie in der Thrombelastographie durch calciumhaltige Elektrolyt-balancierte gegenüber nicht-balancierten Trägerlösungen belegen: Die perioperative Volumensubstitution dieser Studie erfolgte entweder mit balancierten Kristalloiden, einer nicht-balancierten HES-Lösung (6 % HES, MW 550.000 Da, DS 0,7) oder einer Elektrolyt-balancierten HES-Lösung (6 % HES, MW 550.000 Da, DS 0,7). Es ließen sich im Vergleich der beiden HES-Präparationen keine signifikanten Unterschiede in den Parametern *reaction time*, *coagulation time* oder *maximum amplitude*, also den der CT, CFT und MCF entsprechenden Parametern [86], zeigen, solange die Infusionsmenge die Körpergewichts (KG)-bezogene Dosierung von 20 ml HES/kg KG unterschritt. Bei HES-Infusionsmengen ab 20 ml/kg KG waren die Veränderungen im Sinne einer beeinträchtigten Blutgerinnung der Parameter *reaction time*, *coagulation time* und *maximum amplitude* in der Gruppe der nicht-balancierten HES-Lösung nur tendenziell stärker ausgeprägt [45].

*In vivo*-Studien zum Effekt der Trägerlösung moderner Drittgenerations-HES auf die aktivierte Thrombelastometrie sind bisher nicht publiziert. In einer *in vivo* Studie von Base et al. wurde der Effekt einer nicht-balancierten versus einer calciumfreien, Elektrolyt-balancierten 6-prozentigen HES (MW 130.000 Da, DS 0,4) in 81 kardiochirurgischen Patienten untersucht [11]. Primäres Zielkriterium war der Serumchloridspiegel, konventionelle Gerinnungsparameter und Blutverlust wurden als

sekundäre Sicherheitsparameter ebenfalls bestimmt. Weder hinsichtlich der Laborparameter, noch hinsichtlich des Blutverlustes wurden signifikante Unterschiede berichtet, detaillierte Angaben fehlen [11].

#### **4.2.2.3 Zusammenfassung: Einfluss der Trägerlösung der HES-Präparation Thrombelastometrie**

Mittels Thrombelastometrie lassen sich in der vorliegenden Studie für moderne HES (MW 130.000 Da, DS 0,4 bzw. 0,42) keine Unterschiede in der Ausprägung der HES-induzierten Gerinnungsstörung durch Verwendung einer Elektrolyt-balancierten Trägerlösung verglichen mit einer nicht-balancierten HES-Lösung zeigen. Diese Ergebnisse sind im Einklang mit publizierten *in vitro*-Hämodilutionsstudien zum Effekt der Trägerlösung von Drittgenerations-HES auf die aktivierte Thrombelastometrie und auf die Blutgerinnung *in vivo*.

#### **4.3 HES-induziertes, erworbenes von-Willebrand-Syndrom Typ 1**

Für beide in dieser Studie untersuchten Blutgruppen 0 und A ist unabhängig von der für die *in vitro*-Hämodilution verwendeten modernen HES-Lösungen (MW 130.000 Da, DS 0,4 bzw. 0,42) mit steigender Verdünnung ein zunehmender Abfall sowohl der absoluten als auch der relativen Werte aller untersuchten Parameter des von-Willebrand-Systems sowie des assoziierten Faktors VIII nachweisbar.

Die vorliegende Studie konnte damit die unter anderem von Favaloro et al. publizierte Blutgruppenabhängigkeit des FVIII und der von-Willebrand-Parameter vWF-Antigen, vWF-Aktivität und vWF:CBA [36] in den Baseline-Messungen und allen Dilutionsstufen unabhängig von der verwendeten Dilutionslösung bestätigen.

Eine Fragestellung dieser Studie war, ob sich die in der Literatur beschriebene stärkere Ausprägung eines HES-induzierten von-Willebrand-Syndroms Typ 1 bei Trägern der Blutgruppe 0 unter Verwendung einer Hydroxyethylstärke der dritten Generation (MW 130.000 Da, DS 0,4 bzw. 0,42) reproduzieren lässt.

Das vWS Typ 1 ist durch eine quantitative Verminderung des vWF und des assoziierten FVIII sowie eine Verminderung der funktionellen Aktivität des vWF gekennzeichnet [117]. Die Mediane der absoluten Werte von vWF-Antigen, vWF-Aktivität, vWF-Collagenbindungsaktivität und FVIII lagen in der vorliegenden Hämodilutionsstudie für

die nicht-balancierte 10 % HES und die beiden Elektrolyt-balancierten HES-Lösungen für Blutgruppe 0 häufiger unterhalb der angegebenen Referenzbereiche als für Blutgruppe A. Ohne Berücksichtigung der niedrigeren Ausgangswerte könnten diese Ergebnisse als eine stärkere Ausprägung des HES-induzierten von-Willebrand-Syndroms Typ 1 bei Trägern der Blutgruppe 0 auch durch moderne Drittgenerations-HES (MW 130.000 Da, DS 0,4 bzw. 0,42) interpretiert werden.

Im Vergleich der relativen Werte des von-Willebrand-Systems beider Blutgruppen jedoch zeigten sich unabhängig von der verwendeten HES-Präparation in den einzelnen Dilutionsstufen keine signifikanten quantitativen Unterschiede des vWF, d.h. laborchemisch im vWF-Antigen-Wert, oder im assoziierten FVIII.

Hinsichtlich der funktionellen Aktivitätsbestimmung des vWF sind die Ergebnisse inhomogen: Für die nicht-balancierte 6-prozentige HES treten keine Blutgruppenunterschiede auf. Bei der nicht-balancierten 10-prozentigen HES ist in der Blutgruppe 0 die vWF-Aktivität in Dilutionen kleiner als 60 % niedriger, die vWF:CBA in 60-prozentiger Dilution aber höher. Für die Elektrolyt-balancierte 6-prozentige HES ist nur vWF-Aktivität in 40-prozentiger Dilution für Blutgruppe 0 signifikant niedriger, für die balancierte 10-prozentige HES dagegen in Dilutionen kleiner 60 %.

In der Literatur existieren bislang keine *in vitro*-Daten zur Blutgruppenabhängigkeit eines durch Elektrolyt-balancierte isoonkotische oder hyperonkotische HES-Lösungen der dritten Generation induzierten vWS. *In vivo*-Studien wurden von Huraux et al. für eine nicht-balancierte 6 % HES-Lösung der zweiten Generation [57], bzw. für nicht-balancierte 6 % HES-Präparationen der dritten Generation von Kang et al. [69] und Choi et al. [22] publiziert.

In der von Huraux et al. publizierten *in vivo*-Studie wurde nach Infusion von 20 ml/kg KG einer nicht-balancierten, isoonkotischen HES (MW 200.000 Da, DS 0,6) ein signifikant stärkerer Abfall der vWF-Parameter vWF-Antigen und vWF-Ristocetin-Cofaktoraktivität für Träger der Blutgruppe 0 postuliert [57]. In den Baseline-Messungen waren die absoluten Werte für vWF-Antigen, vWF:RCo und FVIII bei Trägern der Blutgruppe 0 signifikant niedriger als bei Trägern von Nicht-0-Blutgruppen. Für vWF-Antigen und vWF:RCo blieben die absoluten Werte auch nach HES-Infusion für Blutgruppe 0 signifikant niedriger. Klinisch konnte kein relevanter Effekt dieser niedrigeren Werte

beobachtet werden: Signifikante Unterschiede hinsichtlich des Blutverlustes gab es zwischen den Blutgruppen nicht [57].

Lisander und Hahn wiesen in einem Leserbrief auf die Möglichkeit der relativen Werte zum Vergleich zwischen den Blutgruppen hin, und konstatierten für die relativen Werte einen rein dilutionsbedingten Abfall der Werte für vWF-Antigen, vWF:RCo und FVIII [85]. Damit wären für vWF-Antigen und FVIII die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit im Einklang mit der von Huraux et al. publizierten Studie [57].

Kang et al. kamen in einer *in vivo*-Studie zum Einfluss einer akuten normovolämen Hämodilution von 30 % des Blutvolumens mit einer nicht-balancierten HES-Präparation (6 % HES, MW 130.000 Da, DS 0,4) [69] zu vergleichbaren Ergebnissen: Die absoluten Werte für vWF-Antigen, vWF:RCo und FVIII lagen bei Trägern der Blutgruppe 0 vor und nach der akuten normovolämen Hämodilution niedriger als bei den Non-0-Blutgruppen. Bei Betrachtung der relativen Werte nach Hämodilution jedoch ließ sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Blutgruppen hinsichtlich vWF-Antigen oder FVIII nachweisen; lediglich vWF:RCo war für Träger der Blutgruppe 0 signifikant niedriger. Auch in dieser Studie zeigte sich bei vergleichbarem Blutverlust kein klinisches Korrelat dieser niedrigeren vWF:RCo-Werte [69].

In der vorliegenden Arbeit wurde aufgrund der automatisierten Messung und der damit beschriebenen höheren Reproduzierbarkeit [92, 125] statt vWF:RCo die vWF-Aktivität im Rahmen der funktionellen Aktivitätsbeurteilung des vWF bestimmt. Die für die Blutgruppen vergleichbaren relativen Werte von FVIII und vWF-Antigen unabhängig von der verwendeten HES-Präparation sind vereinbar mit den von Kang et al. publizierten *in vivo*-Ergebnissen [69]. Im Gegensatz zu der von Kang et al. veröffentlichten Studie ließ sich mittels vWF-Aktivität für die nicht-balancierte, 6-prozentige HES-Lösung (MW 130.000 Da, DS 0,4) die höhere funktionelle Aktivität des vWF für Träger einer Non-0-Blutgruppe im Vergleich zu Trägern der Blutgruppe 0 nicht nachweisen, für die nicht-balancierte 10 % HES und die Elektrolyt-balancierten 6 % bzw. 10 % HES-Präparationen (MW 130.000 Da, DS 0,42) dagegen schon.

Choi et al. führten ebenfalls eine *in vivo*-Studie durch, in der die blutgruppenabhängige Veränderung von Gerinnungsparametern inklusive FVIII und des vWF-Antigens nach intraoperativer Infusion von 15 ml/kg KG einer nicht-balancierten isoonkotischen HES-Präparation (MW 130.000 Da, DS 0,4) untersucht wurde [22]. Analog zu den



Ergebnissen der vorliegenden Arbeit und den von Huraux et al. [57] und Kang et al. [69] publizierten Studien lagen die absoluten Werte für FVIII bei Trägern der Blutgruppe 0 vor und nach der HES-Infusion signifikant unter denen der Non-0-Träger [22]. Hierzu muss kritisch angemerkt werden, dass relative Werte als Berücksichtigung niedrigerer Ausgangswerte nicht betrachtet wurden. Die absoluten vWF-Antigen-Werte dagegen waren vergleichbar. Auch in der von Choi et al. publizierten Studie ließ sich trotz signifikanter Unterschiede in den Laborwerten kein blutgruppenabhängiger Unterschied des Blutverlusts nachweisen [22].

Gemeinsam ist allen genannten Studien der blutgruppenunabhängige Abfall der Parameter des von-Willebrand-Systems nach Hämodilution mit HES-Präparationen. Für Träger der Blutgruppe 0 ist der Abfall der Laborparameter unter die jeweiligen Referenzbereiche unter Berücksichtigung physiologisch niedrigerer Ausgangswerte bei geringeren Verdünnungsgraden als für Träger der anderen Blutgruppen zu erwarten. Die klinische Relevanz dieser niedrigeren Werte, d.h. die Blutungsneigung bzw. das Auftreten von Blutungskomplikationen, wird in der Literatur jedoch kontrovers diskutiert:

In einer von Tosetto et al. publizierten Multicenterstudie wurde für Patienten mit vWS Typ 1 eine blutgruppenunabhängige, inverse Korrelation der Blutungsneigung mit den Parametern des von-Willebrand-Systems vWF-Antigen und vWF:Ristocetin-Cofaktor (vWF:RCo) nachgewiesen [136].

Woods et al. veröffentlichten eine Beobachtungsstudie, in der die Häufigkeit von perioperativen Blutungskomplikationen bei Patienten mit gesichertem oder wahrscheinlichem vWS Typ 1 untersucht wurde [149]. Blutgruppenunabhängig wurden Patienten mit vWF:RCo-Werten von 15 - 30 IU/dl dem gesicherten, bzw. mit vWF:RCo-Werten von 31 - 49 IU/dl dem wahrscheinlichen vWS Typ 1 zugeordnet. Die Werte für vWF-Antigen, vWF:RCo und FVIII unterschieden sich zwischen den Patienten mit und ohne Blutungskomplikationen nicht signifikant [149].

Eine stärkere quantitative Beeinflussung des vWF durch moderne HES-Präparationen für Träger der Blutgruppe 0 ließ sich in der vorliegenden *in vitro*-Hämodilutionsstudie unter Berücksichtigung der physiologisch niedrigeren Ausgangswerte nicht nachweisen, eine stärkere funktionelle Beeinflussung jedoch auch nicht ausschließen. Als weitere mögliche Ursache für den Abfall der Parameter des von-Willebrand-Systems nach HES-Infusion wird neben der HES-induzierten Verdünnung auch ein beschleunigter Abbau

des vWF diskutiert [64]. In Kombination mit der von Gallinaro et al. publizierten kürzeren Halbwertszeit des vWF bei Trägern der Blutgruppe 0 durch erhöhte Elimination [44] lässt sich ein stärkerer *in vivo*-Abfall der Laborwerte durch moderne HES-Lösungen nicht ausschließen, die klinische Relevanz niedriger von-Willebrand-Parameter ist jedoch nicht abschließend geklärt.

#### 4.4 Methodenkritik

Die Ausgangswerte für aPTT lagen bei zwei Probanden, die Werte für vWF:CBA bzw. vWF-Antigen und vWF-Aktivität bei je einem Probanden in den Ausgangsmessungen oberhalb der vom Labor angegebenen Referenzbereiche. Hinsichtlich der aPTT ergab eine Rücksprache mit dem Qualitätsmanagements des Instituts für Medizinische Diagnostik Oderland, Frankfurt/Oder, Deutschland, dass dies auf die Impräzision der Methode, d.h. zufällige Messfehler, zurückzuführen sein kann. Die Probanden mit erhöhten Werten für vWF:CBA bzw. vWF-Antigen und vWF-Aktivität berichteten über Stress. Stress kann zu einer Erhöhung der vWF-Messwerte führen [17]. Aufgrund der möglichen Messfehler im Fall der aPTT und der Verwendung relativer vWF-Werte für die Auswertung wurden die Probanden nicht aus dieser *in vitro*-Studie ausgeschlossen.

Durch das *in vitro*-Design dieser Studie fehlen der hämostaseologische Effekt des Endothels, die Kompensationsmechanismen der Elektrolythomöostase, die enzymatische Degradierung und renale Eliminierung der Hydroxyethylstärke (HES) [115] sowie die in Abhängigkeit der HES-Konzentration unterschiedlichen kolloidosmotischen Effekte der iso- bzw. hyperonkotischen Präparationen [33].

Die hämostaseologischen Effekte des Endothels können pro- und antikoagulatorisch sein [112]. Für die in dieser Arbeit untersuchte Koagulopathie ist relevant, dass das Endothel sowohl Synthese- als auch Speicherort für den von-Willebrand-Faktor (vWF) [117] und einen extrahepatischen Syntheseort für den FVIII [60] darstellt.

Eine direkte Inhibition der vWF-Freisetzung aus dem Endothel durch HES wurde von Collis et al. 1994 publiziert, wobei der Mechanismus unklar ist [23]. Diese HES-spezifischen Endothelwirkungen lassen sich *in vitro* nicht darstellen.

Das extrazelluläre ionisierte Calcium wird *in vivo* über den calciumsensitiven Rezeptor durch Parathormon, Calcitriol und Calcitonin reguliert [93]. Der in der vorliegenden Studie gemessene Anstieg des ionisierten Calciums durch Hämodilution mit calcium-

haltigen Elektrolyt-balancierten HES-Präparationen könnte ein *in vitro*-Messergebnis sein, das *in vivo* durch Kompensationsmechanismen möglicherweise nicht in dieser Ausprägung auftritt.

*In vivo* werden HES-Moleküle degradiert und renal eliminiert. Die renale Elimination erfolgt in Abhängigkeit von der Molekülgröße entweder primär oder nach enzymatischer Spaltung durch Serum- $\alpha$ -Amylase in kleinere Fragmente sekundär [68]. Für eine isoonkotische HES-Präparation (MW 130.000 Da, DS 0,4) wurde, verglichen mit einer hyperonkotischen HES-Präparation gleicher Molekülmasse und gleichen Substitutionsgrades, eine höhere Plasmaclearance beschrieben [143]. Die Unterschiede der koagulopathischen Effekte der iso- und hyperonkotischen HES-Lösungen könnten *in vivo* durch die differierenden Plasmahalbwertszeiten stärker ausfallen.

Hyperonkotische HES-Präparationen üben einen höheren kolloidosmotischen Druck aus. Mit steigendem kolloidosmotischen Druck kommt es *in vivo* zu einer stärkeren Flüssigkeitsverschiebung aus dem Interstitium und dem Gewebe nach intravasal [31, 135]. Für isoonkotische HES-Präparationen wird ein Volumeneffekt von 100 % beschrieben, für hyperonkotische Präparationen dagegen als Folge des höheren kolloidosmotischen Drucks ein Volumeneffekt von 130 % [31]. Der effektive *in vivo*-Dilutionsgrad und der Grad der auftretenden Dilutionskoagulopathie können daher initial nach intravenöser Gabe gleicher Mengen iso- und hyperonkotischer HES-Präparationen abweichen.

Unter Berücksichtigung der Herstellerempfehlungen für die Thrombelastometrie und der Notwendigkeit für die Laboranalysen wurde in dieser Studie Citratblut verwendet. Für Citrat ist eine antikoagulatorische Wirkung beschrieben, die auch durch Recalcifizierung nicht vollständig reversibel ist [88], und eine Limitation dieser Studie darstellt. Diese Limitation würde auch für *in vivo*-Studien bei standardkonformer Verwendung von Citratblut für die meisten Gerinnungsuntersuchungen [10] gelten.

Eine weitere Limitation für die Übertragbarkeit der *in vitro*-Studienergebnisse stellt das Fehlen der hämostaseologischen Auswirkungen von (Anästhesie-)Medikamenten [91] sowie der perioperativen Hyperkoagulabilität [97] dar, die *in vivo* im perioperativen Volumenmanagement mit den HES-spezifischen koagulopathischen Effekten interagieren und konkurrieren können. Ungeachtet der Limitationen haben *in vitro*-Studien einen international anerkannten Stellenwert im Rahmen von

pharmakologischen Sicherheitsprüfungen [12] und der Erforschung zugrunde liegender Mechanismen *in vivo* beobachteter Phänomene [2].

#### **4.5 Schlussfolgerungen und Ausblick**

Vor dem Hintergrund der Empfehlung einer restriktiven Transfusionspraxis zur Reduktion von Mortalität und Morbidität nehmen künstliche Kolloide bei Blut- und Volumenverlusten eine zentrale Rolle zur Stabilisierung von Kreislaufparametern sowie zur Sicherstellung einer adäquaten Gewebeoxygenierung ein. In Situationen mit Blutverlusten kann eine über die Dilutionskoagulopathie hinausgehende kolloidspezifische Koagulopathie zu erhöhter Blutungsneigung führen, die in dem zunächst vermiedenen Transfusionsbedarf münden kann.

Bei Vorteilen von Hydroxyethylstärke (HES) gegenüber anderen Kolloiden durch die geringere Rate potentiell vital bedrohlicher allergischer Reaktionen ist für ein verbessertes perioperatives Volumenmanagement die Klärung der Einflussfaktoren auf die HES-spezifische Koagulopathie essentiell. In dieser Arbeit wurden die Einflussfaktoren *HES-Konzentration* und *Trägerlösungszusammensetzung* untersucht. Des Weiteren wurde die *in vitro*-Reproduzierbarkeit der blutgruppenabhängigen Ausprägung des HES-induzierten von-Willebrand-Syndroms Typ 1 für Drittgenerations-HES überprüft.

Die vorliegende Arbeit konnte *in vitro* dilutionsabhängig einerseits eine geringer ausgeprägte Veränderung der Globalparameter aPTT und Quick-Wert, andererseits eine stärkere Beeinträchtigung dynamischer Gerinnungsparameter, speziell der Fibrinpolymerisation, durch Verwendung einer hyperonkotischen HES-Lösung auch für die modernen Präparationen der dritten Generation zeigen. Die Diskrepanz in den beobachteten Effekten einer höher konzentrierten HES-Lösung mit geringerer Beeinträchtigung konventioneller Laborparameter, aber stärkerer Beeinträchtigung der Thrombelastometrie kann ein HES-bedingtes *in vitro* Messartefakt bei turbidimetrischer Bestimmung sein. Im Fall von turbidimetrischen, d.h. optischen, Bestimmung von Gerinnungsparametern sollten in Anwesenheit von Kolloiden wie HES mit falsch-hohen Werten gerechnet bzw. mechanische Bestimmungsmethoden bevorzugt werden. Bei Fehlen von *in vivo*-Daten sollte die Indikation für den hochvolumigen klinischen Einsatz

der hyperonkotischen HES-Präparationen streng gestellt werden, da in Abhängigkeit vom Dilutionsgrad eine messbare Störung der Fibrinpolymerisation zu erwarten ist.

Hinsichtlich des Einflusses der Trägerlösung auf die HES-induzierte Koagulopathie ließ sich die in der Literatur beschriebene, geringere Beeinflussung konventioneller Laborparameter durch eine Elektrolyt-balancierte Trägerlösung reproduzieren, die methodischen Limitationen einer *in vitro*-Hämodilutionsstudie speziell in Hinblick auf die Calciumhomöostase erfordern jedoch eine Reevaluation dieser Ergebnisse *in vivo*, um klinische Fehlinterpretationen zu vermeiden. Die mittels Thrombelastometrie bestimmte HES-induzierte Koagulopathie unterscheidet sich zwischen den Trägerlösungen nicht; ein Vorteil für Elektrolyt-balancierte Trägerlösungen lässt sich aus dieser *in vitro*-Studie nicht ableiten. Für Elektrolyt-balancierte Trägerlösungen sind *in vivo* gegenüber nicht-balancierten Trägerlösungen weniger stark ausgeprägte, metabolische Effekte bekannt [126, 148], die sekundär über den pH, Basenüberschuss und Calciumhaushalt zu einer verbesserten Gerinnungssituation beitragen könnten [83], so dass weiterführende *in vivo*-Studien für die Klärung des Einflusses der HES-Trägerlösung auf die HES-induzierte Koagulopathie notwendig erscheinen.

Eine stärkere Ausprägung eines HES-induzierten von-Willebrand-Syndroms Typ 1 für Träger der Blutgruppe 0 durch moderne HES-Präparationen ließ sich in der vorliegenden *in vitro*-Hämodilutionsstudie unter Berücksichtigung der physiologisch niedrigeren Ausgangswerte nicht reproduzieren. Durch das Studiendesign ist die erhöhte Eliminationsrate des vWF bei Blutgruppe 0 [44] nicht berücksichtigt, so dass ein stärkerer *in vivo*-Abfall der Parameter des von-Willebrand-Systems durch moderne HES-Lösungen nicht ausgeschlossen ist. Die klinische Relevanz niedriger von-Willebrand-Parameter ist jedoch nicht abschließend geklärt.

## 5 Zusammenfassung

### Einleitung und Herleitung der Aufgabenstellung

Hydroxyethylstärke (HES)-basierte Volumenersatzmittel sind die derzeit in Europa am häufigsten eingesetzten künstlichen Kolloide. Zu den unerwünschten Arzneimittelwirkungen von HES-Lösungen gehört die HES-induzierte Koagulopathie mit Störung der Fibrinpolymerisation und der Thrombozytenfunktion sowie das Auftreten eines HES-induzierten, erworbenen von-Willebrand-Syndroms Typ 1.

Änderungen der HES-Präparationen in Bezug auf Molekülmasse, Substitutionsgrad und Konzentration konnten die Gerinnungsbeeinträchtigung nachweislich reduzieren. Moderne HES-Präparationen sind mittelmolekular, niedrigsubstituiert und meist isoonkotisch. Ältere hyperonkotische HES-Lösungen wurden mit einer verbesserten Hämodynamik und verbessertem Sauerstofftransport, jedoch auch mit einer stärkeren Gerinnungsstörung assoziiert. Die Einführung Elektrolyt-balancierter Trägerlösungen als Ersatz der klassischen 0,9 % Natriumchloridlösung resultierte in signifikant geringeren metabolischen Störungen; ein möglicher Vorteil auf die koagulopathischen Effekte wird bislang kontrovers diskutiert.

Ziel der vorliegenden Studie war die systematische Untersuchung der Auswirkungen auf das Gerinnungssystem *in vitro* durch die Konzentration und die Trägerlösung moderner, mittelmolekularer niedrigsubstituierter HES-Präparationen sowie die Überprüfung der *in vitro*-Reproduzierbarkeit der Blutgruppenabhängigkeit des HES-induzierten erworbenen von-Willebrand-Syndroms Typ 1 durch diese modernen Präparationen.

### Methodik

Iso- und hyperonkotische, nicht-balancierte und Elektrolyt-balancierte HES-Lösungen mit identischer Molekülmasse (MW 130.000 Da) und vergleichbarem Substitutionsgrad (DS 0,4 bzw. 0,42) wurden in einem *in vitro*-Hämodilutionsmodell mit Citratblut von zehn freiwilligen, gesunden Probanden der Blutgruppen 0 und A hinsichtlich des Effekts auf die konventionellen Laborparameter, das von-Willebrand-System und die mittels aktivierter Thrombelastometrie gemessenen dynamischen Funktionsparameter der Gerinnung in den Dilutionsgraden 20 %, 40 % und 60 % untersucht.

Die untersuchten konventionellen Laborparameter beinhalteten ein kleines Blutbild, ionisiertes Calcium, Quick-Wert, aPTT, Faktor VIII sowie die Quantifizierung des von-Willebrand-Faktors (vWF) und dessen funktionelle Beurteilung. Im EXTEM-Test der Thrombelastometrie wurden die Parameter CT, CFT und MCF, im FIBTEM-Test die MCF untersucht. Die statistische Auswertung erfolgte mit non-parametrischen Tests.

## **Ergebnisse**

Bezogen auf die Fragestellung nach dem Einfluss der HES-Konzentration zeigten sich in dieser Studie in den konventionellen Laborparametern zum Teil, aber nicht in allen Dilutionsstufen, signifikant höhere Quick- und FVIII-Werte bzw. niedrigere aPTT-Werte nach Dilution mit der hyperonkotischen HES-Präparation. Die Parameter des von-Willebrand-Systems zeigten keinen Vorteil der Dilutionen mit der 10-prozentigen HES. In den dynamischen Gerinnungsparametern der Thrombelastometrie dagegen wurde eine stärkere Ausprägung der HES-induzierten Gerinnungsbeeinträchtigung durch die höher konzentrierten Präparationen nachgewiesen.

Auf die Frage nach dem Einfluss der Trägerlösung konnten in den konventionellen Laborparametern signifikant höhere Spiegel ionisierten Calciums und weniger stark beeinträchtigte Werte für Quick-Wert, aPTT sowie signifikant höhere Faktor VIII-Spiegel nach Hämodilution mit HES-Lösungen in calciumhaltiger Elektrolyt-balancierter Trägerlösung gemessen werden. Aus den Parametern des von-Willebrand-Systems ließ sich kein Vorteil der Elektrolyt-balancierten Trägerlösung ableiten. Der in der Literatur beschriebene Vorteil einer Elektrolyt-balancierten Trägerlösung auf die Thrombelastometrieparameter ließ sich nicht reproduzieren.

Hinsichtlich des von-Willebrand-Systems konnten in dieser Studie die in der Literatur beschriebenen niedrigeren Werte des vWF, des assoziierten Faktor VIII und der funktionellen Aktivität des vWF für Träger der Blutgruppe 0 im Vergleich zu Trägern der Blutgruppe A reproduziert werden. Eine stärkere quantitative Beeinflussung des vWF durch moderne HES-Präparationen für Träger der Blutgruppe 0 ließ sich in der vorliegenden *in vitro*-Hämodilutionsstudie unter Berücksichtigung der physiologisch niedrigeren Ausgangswerte nicht nachweisen, eine stärkere funktionelle Beeinträchtigung jedoch auch nicht ausschließen.

## Diskussion und Schlussfolgerung

Die Diskrepanz in den beobachteten Effekten einer höher konzentrierten HES-Lösung mit geringerer Beeinträchtigung konventioneller Laborparameter, aber stärkerer Beeinträchtigung der Thrombelastometrie ist im Einklang mit der vorhandenen Literatur und kann ein HES-bedingtes *in vitro* Messartefakt bei turbidimetrischer Bestimmung sein. Im Fall von turbidimetrischen, d.h. optischen, Bestimmung von Gerinnungsparametern sollten in Anwesenheit von Kolloiden wie HES mit falsch-hohen Werten gerechnet bzw. mechanische Bestimmungsmethoden bevorzugt werden. Bei Fehlen valider *in vivo*-Daten sollte die Indikation für den hochvolumigen klinischen Einsatz einer hyperonkotischen HES-Präparation aufgrund der mittels Thrombelastometrie nachgewiesenen stärkeren Beeinträchtigung der Gerinnung streng gestellt werden.

Die bislang kontrovers geführte Diskussion über mögliche Vorteile einer Elektrolyt-balancierten Trägerlösung in der HES-induzierten Dilutionskoagulopathie konnte mit dieser Studie um eine *in vitro* signifikante Beeinflussung des ionisierten Calciums und Calcium-abhängiger Laborparameter wie aPTT, Quick-Wert und FVIII und der Parameter des von-Willebrand-Systems erweitert werden. Die mittels Thrombelastometrie bestimmte HES-induzierte Koagulopathie unterscheidet sich unabhängig von der Trägerlösung nicht; ein Vorteil für Elektrolyt-balancierte Trägerlösungen lässt sich aus dieser *in vitro*-Studie nicht ableiten. Zur Überprüfung der Hypothese eines *in vitro*-Artefakts und zur Klärung der Auswirkung calciumhaltiger Trägerlösungen auf die Konzentration ionisierten Calciums unter *in vivo*-Bedingungen mit intakter Calciumhomöostase könnten *in vivo*-Untersuchungen mit Messung der  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration und FVIII-Spiegel beitragen.



---

## 6 Literatur- und Quellenverzeichnis

- [1] Human albumin administration in critically ill patients: systematic review of randomised controlled trials. Cochrane Injuries Group Albumin Reviewers. *BMJ* 1998;317(7153):235-240.
- [2] ICH Topic S 7 A: Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals., CPMP/ICH/539/00. European Medicines Agency (2001).
- [3] Preferences for colloid use in Scandinavian intensive care units. *Acta Anaesthesiol Scand* 2008;52(6):750-758.
- [4] Adam S, Karger R, Kretschmer V. Influence of different hydroxyethyl starch (HES) formulations on fibrinogen measurement in HES-diluted plasma. *Clin Appl Thromb Hemost* 2010;16(4):454-460.
- [5] Adams HA, Piepenbrock S, Hempelmann G. Volumenersatzmittel - Pharmakologie und klinischer Einsatz. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 1998;33(1):2-17.
- [6] Ahn HJ, Yang M, Gwak MS, et al. Coagulation and biochemical effects of balanced salt-based high molecular weight vs saline-based low molecular weight hydroxyethyl starch solutions during the anhepatic period of liver transplantation. *Anaesthesia* 2008;63(3):235-242.
- [7] Alexander B. Blood coagulation and thrombotic disease. *Circulation* 1962;25:872-890.
- [8] Antony C, Rossaint R, Schaelte G. Das von Willebrand-Syndrom. Diagnose und Management. *Internist (Berl)* 2010;51(9):1118, 1120-1116.
- [9] Bajaj SP, Joist JH. New insights into how blood clots: implications for the use of APTT and PT as coagulation screening tests and in monitoring of anticoagulant therapy. *Semin Thromb Hemost* 1999;25(4):407-418.
- [10] Barthels M. Gerinnungsdiagnostik. *Hämostaseologie* 2008;28(5):320-334.
- [11] Base EM, Standl T, Lassnigg A, et al. Efficacy and safety of hydroxyethyl starch 6% 130/0.4 in a balanced electrolyte solution (Volulyte) during cardiac surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2011;25(3):407-414.
- [12] Beernaert H, Vanherle AM, Bertrand S. Critical aspects in implementing the OECD monograph No. 14 "the application of the principles of GLP to in vitro studies". *Ann Ist Super Sanita* 2008;44(4):348-356.
- [13] Bock TK, Muller BW. A novel assay to determine the hemolytic activity of drugs incorporated in colloidal carrier systems. *Pharm Res* 1994;11(4):589-591.
- [14] Bohner J, Von Pape KW. Method Dependent Reference Values and Pre-analytical Influences in Rotation Thrombelastography [abstract]. *Annals of Hematology* 2003;82 Suppl 1:13.
- [15] Bolliger D, Szlam F, Levy JH, Molinaro RJ, Tanaka KA. Haemodilution-induced profibrinolytic state is mitigated by fresh-frozen plasma: implications for early haemostatic intervention in massive haemorrhage. *Br J Anaesth* 2010;104(3):318-325.
- [16] Bothner U, Georgieff M, Vogt NH. Assessment of the safety and tolerance of 6% hydroxyethyl starch (200/0.5) solution: a randomized, controlled epidemiology study. *Anesth Analg* 1998;86(4):850-855.
- [17] Budde U, Drewke E, Will K, Schneppenheim R. Standardisierte Diagnostik des von-Willebrand-Syndroms. *Hämostaseologie* 2004;24(1):12-26.
- [18] Calatzis A, Calatzis A, Fritzsche P. Weiterentwicklungen der Thrombelastographie: Automatische Computerauswertung und Neuentwicklung eines Thrombelastographen. *Biomedizinische Technik/Biomedical Engineering* 1995;40(s1):393-394.

- 
- [19] Casutt M, Kristoffy A, Schuepfer G, Spahn DR, Konrad C. Effects on coagulation of balanced (130/0.42) and non-balanced (130/0.4) hydroxyethyl starch or gelatin compared with balanced Ringer's solution: an in vitro study using two different viscoelastic coagulation tests ROTEM™ and SONOCLOT™. *Br J Anaesth* 2010;105(3):273-281.
- [20] Chen G, Yan M, Lu QH, Gong M. Effects of two different hydroxyethyl starch solutions (HES200/0.5 vs. HES130/0.4) on the expression of platelet membrane glycoprotein. *Acta Anaesthesiol Scand* 2006;50(9):1089-1094.
- [21] Cho J, Mosher DF. Enhancement of thrombogenesis by plasma fibronectin cross-linked to fibrin and assembled in platelet thrombi. *Blood* 2006;107(9):3555-3563.
- [22] Choi SJ, Ahn HJ, Lee JI. Comparison of coagulation factors and blood loss between O and non-O blood types following hydroxyethyl starch infusion. *Korean J Anesthesiol* 2010;58(4):344-350.
- [23] Collis RE, Collins PW, Gutteridge CN, et al. The effect of hydroxyethyl starch and other plasma volume substitutes on endothelial cell activation; an in vitro study. *Intensive Care Med* 1994;20(1):37-41.
- [24] Cope JT, Banks D, Mauney MC, et al. Intraoperative hetastarch infusion impairs hemostasis after cardiac operations. *Ann Thorac Surg* 1997;63(1):78-82.
- [25] Cramer EM, Meyer D, le Menn R, Breton-Gorius J. Eccentric localization of von Willebrand factor in an internal structure of platelet alpha-granule resembling that of Weibel-Palade bodies. *Blood* 1985;66(3):710-713.
- [26] Dailey SE, Dysart CB, Langan DR, et al. An in vitro study comparing the effects of Hextend, Hespan, normal saline, and lactated ringer's solution on thrombelastography and the activated partial thromboplastin time. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2005;19(3):358-361.
- [27] De Lorenzo C, Calatzis A, Welsch U, Heindl B. Fibrinogen concentrate reverses dilutional coagulopathy induced in vitro by saline but not by hydroxyethyl starch 6%. *Anesth Analg* 2006;102(4):1194-1200.
- [28] Dehne MG, Muhling J, Sablotzki A, Papke G, Kuntzsch U, Hempelmann G. Einfluß von Hydroxyethylstärke-Lösung auf die Nierenfunktion bei operativen Intensivpatienten. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 1997;32(6):348-354.
- [29] Despotis GJ, Joist JH, Goodnough LT. Monitoring of hemostasis in cardiac surgical patients: impact of point-of-care testing on blood loss and transfusion outcomes. *Clin Chem* 1997;43(9):1684-1696.
- [30] Deusch E, Gamsjager T, Kress HG, Kozek-Langenecker SA. Binding of hydroxyethyl starch molecules to the platelet surface. *Anesth Analg* 2003;97(3):680-683.
- [31] Dieterich HJ. Recent developments in European colloid solutions. *J Trauma* 2003;54(5 Suppl):S26-30.
- [32] Eising GP, Niemeyer M, Gunther T, et al. Does a hyperoncotic cardiopulmonary bypass prime affect extravascular lung water and cardiopulmonary function in patients undergoing coronary artery bypass surgery? *Eur J Cardiothorac Surg* 2001;20(2):282-289.
- [33] Ekseth K, Abildgaard L, Vegfors M, Berg-Johnsen J, Engdahl O. The in vitro effects of crystalloids and colloids on coagulation. *Anaesthesia* 2002;57(11):1102-1108.
- [34] Ertmer C, Kohler G, Rehberg S, et al. Renal effects of saline-based 10% pentastarch versus 6% tetrastarch infusion in ovine endotoxemic shock. *Anesthesiology* 2010;112(4):936-947.
- [35] Ertmer C, Rehberg S, Van Aken H, Westphal M. Relevance of non-albumin colloids in intensive care medicine. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2009;23(2):193-212.
- [36] Favaloro EJ, Soltani S, McDonald J, Grezchnik E, Easton L, Favaloro JW. Reassessment of ABO blood group, sex, and age on laboratory parameters used to diagnose von Willebrand disorder: potential influence on the diagnosis vs the potential association with risk of thrombosis. *Am J Clin Pathol* 2005;124(6):910-917.

- 
- [37] Fay PJ. Reconstitution of human factor VIII from isolated subunits. *Arch Biochem Biophys* 1988;262(2):525-531.
- [38] Fenger-Eriksen C, Moore GW, Rangarajan S, Ingerslev J, Sorensen B. Fibrinogen estimates are influenced by methods of measurement and hemodilution with colloid plasma expanders. *Transfusion* 2010;50(12):2571-2576.
- [39] Fenger-Eriksen C, Tonnesen E, Ingerslev J, Sorensen B. Mechanisms of hydroxyethyl starch-induced dilutional coagulopathy. *J Thromb Haemost* 2009;7(7):1099-1105.
- [40] Franz A, Braunlich P, Gamsjager T, Felfernig M, Gustorff B, Kozek-Langenecker SA. The effects of hydroxyethyl starches of varying molecular weights on platelet function. *Anesth Analg* 2001;92(6):1402-1407.
- [41] Friedman G, Jankowski S, Shahla M, Gomez J, Vincent JL. Hemodynamic effects of 6% and 10% hydroxyethyl starch solutions versus 4% albumin solution in septic patients. *J Clin Anesth* 2008;20(7):528-533.
- [42] Fries D. Dilutionskoagulopathie - Entstehung, Diagnostik und Management. *Hämostaseologie* 2006;26(3 Suppl 1):S15-19.
- [43] Fries D, Innerhofer P, Klingler A, et al. The effect of the combined administration of colloids and lactated Ringer's solution on the coagulation system: an in vitro study using thrombelastograph coagulation analysis (ROTEG®). *Anesth Analg* 2002;94(5):1280-1287.
- [44] Gallinaro L, Cattini MG, Sztukowska M, et al. A shorter von Willebrand factor survival in O blood group subjects explains how ABO determinants influence plasma von Willebrand factor. *Blood* 2008;111(7):3540-3545.
- [45] Gan TJ, Bennett-Guerrero E, Phillips-Bute B, et al. Hextend, a physiologically balanced plasma expander for large volume use in major surgery: a randomized phase III clinical trial. Hextend Study Group. *Anesth Analg* 1999;88(5):992-998.
- [46] Gill JC, Endres-Brooks J, Bauer PJ, Marks WJ, Jr., Montgomery RR. The effect of ABO blood group on the diagnosis of von Willebrand disease. *Blood* 1987;69(6):1691-1695.
- [47] Godier A, Durand M, Smadja D, Jeandel T, Emmerich J, Samama CM. Maize- or potato-derived hydroxyethyl starches: is there any thromboelastometric difference? *Acta Anaesthesiol Scand* 2010;54(10):1241-1247.
- [48] Gondos T, Marjanek Z, Ulakcsai Z, et al. Short-term effectiveness of different volume replacement therapies in postoperative hypovolaemic patients. *Eur J Anaesthesiol* 2010;27(9):794-800.
- [49] Guidet B, Soni N, Della Rocca G, et al. A balanced view of balanced solutions. *Crit Care* 2010;14(5):325.
- [50] Habicher M, Perrino A, Jr., Spies CD, von Heymann C, Wittkowski U, Sander M. Contemporary Fluid Management in Cardiac Anesthesia. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2011;25(6):1141-1153.
- [51] Hartert H. Blutgerinnungsstudien mit der Thrombelastographie, einem neuen Untersuchungsverfahren. *Klin Wochenschr* 1948;26(37-38):577-583.
- [52] Hecht-Dolnik M, Barkan H, Taharka A, Loftus J. Hetastarch increases the risk of bleeding complications in patients after off-pump coronary bypass surgery: a randomized clinical trial. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2009;138(3):703-711.
- [53] Hiippala ST. Dextran and hydroxyethyl starch interfere with fibrinogen assays. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1995;6(8):743-746.
- [54] Hilgard P. Experimental hypercalcaemia and whole blood clotting. *J Clin Pathol* 1973;26(8):616-619.
- [55] Holmberg L, Nilsson IM. Genetic variants of von Willebrand's disease. *Br Med J* 1972;3(5822):317-320.

- 
- [56] Howard MA, Montgomery DC, Hardisty RM. Factor-VIII-related antigen in platelets. *Thromb Res* 1974;4(5):617-624.
- [57] Huraux C, Ankri AA, Eyraud D, et al. Hemostatic changes in patients receiving hydroxyethyl starch: the influence of ABO blood group. *Anesth Analg* 2001;92(6):1396-1401.
- [58] Hüter L, Simon TP, Weinmann L, et al. Hydroxyethylstarch impairs renal function and induces interstitial proliferation, macrophage infiltration and tubular damage in an isolated renal perfusion model. *Crit Care* 2009;13(1):R23.
- [59] Innerhofer P, Fries D, Margreiter J, et al. The effects of perioperatively administered colloids and crystalloids on primary platelet-mediated hemostasis and clot formation. *Anesth Analg* 2002;95(4):858-865.
- [60] Jacquemin M, Neyrinck A, Hermanns MI, et al. FVIII production by human lung microvascular endothelial cells. *Blood* 2006;108(2):515-517.
- [61] Jambor C, Reul V, Schnider TW, Degiacomi P, Metzner H, Korte WC. In vitro inhibition of factor XIII retards clot formation, reduces clot firmness, and increases fibrinolytic effects in whole blood. *Anesth Analg* 2009;109(4):1023-1028.
- [62] James MF. The role of tetrastarches for volume replacement in the perioperative setting. *Curr Opin Anaesthesiol* 2008;21(5):674-678.
- [63] James MF, Roche AM. Dose-response relationship between plasma ionized calcium concentration and thrombelastography. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2004;18(5):581-586.
- [64] Jamnicki M, Bombeli T, Seifert B, et al. Low- and medium-molecular-weight hydroxyethyl starches: comparison of their effect on blood coagulation. *Anesthesiology* 2000;93(5):1231-1237.
- [65] Jamnicki M, Zollinger A, Seifert B, Popovic D, Pasch T, Spahn DR. Compromised blood coagulation: an in vitro comparison of hydroxyethyl starch 130/0.4 and hydroxyethyl starch 200/0.5 using thrombelastography. *Anesth Analg* 1998;87(5):989-993.
- [66] Jonville-Bera AP, Autret-Leca E, Gruel Y. Acquired type I von Willebrand's disease associated with highly substituted hydroxyethyl starch. *N Engl J Med* 2001;345(8):622-623.
- [67] Jungheinrich C. The starch family: are they all equal? Pharmacokinetics and pharmacodynamics of hydroxyethyl starches. *Transfusion Alternatives in Transfusion Medicine* 2007;9(3):152-163.
- [68] Jungheinrich C, Neff TA. Pharmacokinetics of hydroxyethyl starch. *Clin Pharmacokinet* 2005;44(7):681-699.
- [69] Kang JG, Ahn HJ, Kim GS, et al. The hemostatic profiles of patients with Type O and non-O blood after acute normovolemic hemodilution with 6% hydroxyethyl starch (130/0.4). *Anesth Analg* 2006;103(6):1543-1548.
- [70] Karkouti K, Beattie WS, Wijeyesundera DN, et al. Hemodilution during cardiopulmonary bypass is an independent risk factor for acute renal failure in adult cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005;129(2):391-400.
- [71] Kastrup M, Markewitz A, Spies C, et al. Current practice of hemodynamic monitoring and vasopressor and inotropic therapy in post-operative cardiac surgery patients in Germany: results from a postal survey. *Acta Anaesthesiol Scand* 2007;51(3):347-358.
- [72] Kaufmann CR, Dwyer KM, Crews JD, Dols SJ, Trask AL. Usefulness of thrombelastography in assessment of trauma patient coagulation. *J Trauma* 1997;42(4):716-720; discussion 720-712.
- [73] Koch CG, Li L, Duncan AI, et al. Morbidity and mortality risk associated with red blood cell and blood-component transfusion in isolated coronary artery bypass grafting. *Crit Care Med* 2006;34(6):1608-1616.
- [74] Koutts J, Walsh PN, Plow EF, Fenton JW, 2nd, Bouma BN, Zimmerman TS. Active release of human platelet factor VIII-related antigen by adenosine diphosphate, collagen, and thrombin. *J Clin Invest* 1978;62(6):1255-1263.

- 
- [75] Kozek-Langenecker SA. Effects of hydroxyethyl starch solutions on hemostasis. *Anesthesiology* 2005;103(3):654-660.
- [76] Kozek-Langenecker SA. Perioperative coagulation monitoring. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2010;24(1):27-40.
- [77] Kozek-Langenecker SA, Jungheinrich C, Sauermann W, Van der Linden P. The effects of hydroxyethyl starch 130/0.4 (6%) on blood loss and use of blood products in major surgery: a pooled analysis of randomized clinical trials. *Anesth Analg* 2008;107(2):382-390.
- [78] Kupinski JM, Miller JL. Multimeric analysis of von Willebrand factor in megakaryocytes. *Thromb Res* 1985;38(6):603-610.
- [79] Lang T, Bauters A, Braun SL, et al. Multi-centre investigation on reference ranges for ROTEM thromboelastometry. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2005;16(4):301-310.
- [80] Lang T, von Depka M. Diagnostische Möglichkeiten und Grenzen der Thrombelastometrie/-graphie. *Hämostaseologie* 2006;26(3 Suppl 1):S20-29.
- [81] Lang T, von Depka M. Diagnostische Möglichkeiten und Grenzen der Thrombelastographie/-metrie. *J Lab Med* 2007;31(6):254-261.
- [82] Laxenaire MC, Charpentier C, Feldman L. [Anaphylactoid reactions to colloid plasma substitutes: incidence, risk factors, mechanisms. A French multicenter prospective study]. *Ann Fr Anesth Reanim* 1994;13(3):301-310.
- [83] Lier H, Krep H, Schroeder S, Stuber F. Preconditions of hemostasis in trauma: a review. The influence of acidosis, hypocalcemia, anemia, and hypothermia on functional hemostasis in trauma. *J Trauma* 2008;65(4):951-960.
- [84] Lindroos AC, Schramko AA, Niiya T, Suojaranta-Ylinen RT, Niemi TT. Effects of combined balanced colloid and crystalloid on rotational thromboelastometry in vitro. *Perfusion* 2011;26(5):422-427.
- [85] Lisander B, Hahn R. Hemostasis in patients of different ABO blood groups. *Anesth Analg* 2002;95(1):254-255; author reply 255.
- [86] Luddington RJ. Thrombelastography/thromboelastometry. *Clin Lab Haematol* 2005;27(2):81-90.
- [87] Ludlam CA, Turner ML. Managing the risk of transmission of variant Creutzfeldt Jakob disease by blood products. *Br J Haematol* 2006;132(1):13-24.
- [88] Mann KG, Whelihan MF, Butenas S, Orfeo T. Citrate anticoagulation and the dynamics of thrombin generation. *J Thromb Haemost* 2007;5(10):2055-2061.
- [89] McFarlane C, Lee A. A comparison of Plasmalyte 148 and 0.9% saline for intra-operative fluid replacement. *Anaesthesia* 1994;49(9):779-781.
- [90] Mittermayr M, Streif W, Haas T, et al. Hemostatic changes after crystalloid or colloid fluid administration during major orthopedic surgery: the role of fibrinogen administration. *Anesth Analg* 2007;105(4):905-917.
- [91] Mizobe T. Haematological effects of anaesthetics and anaesthesia. *Curr Opin Anaesthesiol* 1999;12(4):437-441.
- [92] Mori F, Rossi P, Nardini I, Gambelli D, Farina C. Evaluation of von Willebrand factor activity in factor VIII/von Willebrand factor concentrates with the automated von Willebrand factor: activity IL test. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2010;21(3):221-228.
- [93] Morton AR, Garland JS, Holden RM. Is the calcium correct? Measuring serum calcium in dialysis patients. *Semin Dial* 2010;23(3):283-289.
- [94] Murphy GS, Greenberg SB. The new-generation hydroxyethyl starch solutions: the Holy Grail of fluid therapy or just another starch? *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2010;24(3):389-393.
- [95] Murray DJ, Pennell BJ, Weinstein SL, Olson JD. Packed red cells in acute blood loss: dilutional coagulopathy as a cause of surgical bleeding. *Anesth Analg* 1995;80(2):336-342.

- 
- [96] Nesheim ME, Taswell JB, Mann KG. The contribution of bovine Factor V and Factor Va to the activity of prothrombinase. *J Biol Chem* 1979;254(21):10952-10962.
- [97] Nielsen VG, Asmis LM. Hypercoagulability in the perioperative period. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2010;24(1):133-144.
- [98] Niemi TT, Miyashita R, Yamakage M. Colloid solutions: a clinical update. *J Anesth* 2010;24(6):913-925.
- [99] Oshita K, Az-ma T, Osawa Y, Yuge O. Quantitative measurement of thromboelastography as a function of platelet count. *Anesth Analg* 1999;89(2):296-299.
- [100] Oudemans-van Straaten HM. Citrate anticoagulation for continuous renal replacement therapy in the critically ill. *Blood Purif* 2010;29(2):191-196.
- [101] Parker NE, Porter JB, Williams HJ, Leftley N. Pruritus after administration of hetastarch. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1982;284(6313):385-386.
- [102] Petroianu GA, Liu J, Maleck WH, Mattinger C, Bergler WF. The effect of In vitro hemodilution with gelatin, dextran, hydroxyethyl starch, or Ringer's solution on Thrombelastograph. *Anesth Analg* 2000;90(4):795-800.
- [103] Preston AE, Barr A. The Plasma Concentration of Factor VIII in the Normal Population. II. The Effects of Age, Sex and Blood Group. *Br J Haematol* 1964;10:238-245.
- [104] Rau J, von Heymann C. Letter to the editor. *Perfusion* 2012;27(3):257.
- [105] Rico MC, Rough JJ, Manns JM, et al. Assembly of the prothrombinase complex on the surface of human foreskin fibroblasts: Implications for connective tissue growth factor. *Thromb Res* 2012 129(6):801-806.
- [106] Roche AM, James MF, Bennett-Guerrero E, Mythen MG. Calcium supplementation of saline-based colloids does not produce equivalent coagulation profiles to similarly balanced salt preparations. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2006;20(6):807-811.
- [107] Roche AM, James MF, Bennett-Guerrero E, Mythen MG. A head-to-head comparison of the in vitro coagulation effects of saline-based and balanced electrolyte crystalloid and colloid intravenous fluids. *Anesth Analg* 2006;102(4):1274-1279.
- [108] Roche AM, James MF, Grocott MP, Mythen MG. Coagulation effects of in vitro serial haemodilution with a balanced electrolyte hetastarch solution compared with a saline-based hetastarch solution and lactated Ringer's solution. *Anaesthesia* 2002;57(10):950-955.
- [109] Rock G, Tittley P, Fuller V. Effect of citrate anticoagulants on factor VIII levels in plasma. *Transfusion* 1988;28(3):248-252.
- [110] Rock GA, Cruickshank WH, Tackaberry ES, Ganz PR, Palmer DS. Stability of VIII:C in plasma: the dependence on protease activity and calcium. *Thromb Res* 1983;29(5):521-535.
- [111] Rogers MA, Blumberg N, Saint S, Langa KM, Nallamotheu BK. Hospital variation in transfusion and infection after cardiac surgery: a cohort study. *BMC Med* 2009;7:37.
- [112] Rosenberg RD, Aird WC. Vascular-bed-specific hemostasis and hypercoagulable states. *N Engl J Med* 1999;340(20):1555-1564.
- [113] Ruttman TG, James MF, Aronson I. In vivo investigation into the effects of haemodilution with hydroxyethyl starch (200/0.5) and normal saline on coagulation. *Br J Anaesth* 1998;80(5):612-616.
- [114] Sanfelippo MJ, Suberviola PD, Geimer NF. Development of a von Willebrand-like syndrome after prolonged use of hydroxyethyl starch. *Am J Clin Pathol* 1987;88(5):653-655.
- [115] Scharbert G, Kozek-Langenecker S. Limitations of in vitro experiments on hydroxyethyl starch solutions. *Anesth Analg* 2007;105(3):885; author reply 885-886.

- 
- [116] Scheingraber S, Rehm M, Sehmisch C, Finsterer U. Rapid saline infusion produces hyperchloremic acidosis in patients undergoing gynecologic surgery. *Anesthesiology* 1999;90(5):1265-1270.
- [117] Schneppenheim R, Budde U. Angeborenes und erworbenes von-Willebrand-Syndrom. *Hämostaseologie* 2008;28(5):312-319.
- [118] Schortgen F, Deye N, Brochard L. Preferred plasma volume expanders for critically ill patients: results of an international survey. *Intensive Care Med* 2004;30(12):2222-2229.
- [119] Sefrin P, Rauch S, Zieglmeyer C. Gerinnungsveränderung unter Hydroxyethylstärke. *Anaesthesiol Reanim* 1998;23(6):149-156.
- [120] Simon TL, Alverson DC, AuBuchon J, et al. Practice parameter for the use of red blood cell transfusions: developed by the Red Blood Cell Administration Practice Guideline Development Task Force of the College of American Pathologists. *Arch Pathol Lab Med* 1998;122(2):130-138.
- [121] Sodetz JM, Paulson JC, McKee PA. Carbohydrate composition and identification of blood group A, B, and H oligosaccharide structures on human Factor VIII/von Willebrand factor. *J Biol Chem* 1979;254(21):10754-10760.
- [122] Sossdorf M, Marx S, Schaarschmidt B, et al. HES130/0.4 impairs haemostasis and stimulates pro-inflammatory blood platelet function. *Crit Care* 2009;13(6):R208.
- [123] Stöger Müller B, Stark J, Willschke H, Felfernig M, Hoerauf K, Kozek-Langenecker SA. The effect of hydroxyethyl starch 200 kD on platelet function. *Anesth Analg* 2000;91(4):823-827.
- [124] Strauss RG, Pennell BJ, Stump DC. A randomized, blinded trial comparing the hemostatic effects of pentastarch versus hetastarch. *Transfusion* 2002;42(1):27-36.
- [125] Sucker C, Senft B, Scharf RE, Zotz RB. Determination of von Willebrand factor activity: evaluation of the HaemosIL assay in comparison with established procedures. *Clin Appl Thromb Hemost* 2006;12(3):305-310.
- [126] Sümpelmann R, Witt L, Brutt M, Osterkorn D, Koppert W, Osthaus WA. Changes in acid-base, electrolyte and hemoglobin concentrations during infusion of hydroxyethyl starch 130/0.42/6 : 1 in normal saline or in balanced electrolyte solution in children. *Paediatr Anaesth* 2010;20(1):100-104.
- [127] Takeyama M, Nogami K, Okuda M, et al. Selective factor VIII and V inactivation by iminodiacetate ion exchange resin through metal ion adsorption. *Br J Haematol* 2008;142(6):962-970.
- [128] Takeyama M, Nogami K, Okuda M, Shima M. von Willebrand factor protects the Ca<sup>2+</sup>-dependent structure of the factor VIII light chain. *Br J Haematol* 2009;146(5):531-537.
- [129] Thompson WL, Gadsden RH. Prolonged bleeding times and hypofibrinogenemia in dogs after infusion of hydroxyethyl starch and dextran. *Transfusion* 1965;5(5):440-446.
- [130] Thygesen C, Madjdpour C, Frascarolo P, et al. Effect of high- and low-molecular-weight low-substituted hydroxyethyl starch on blood coagulation during acute normovolemic hemodilution in pigs. *Anesthesiology* 2006;105(6):1228-1237.
- [131] Tien H, Nascimento B, Jr., Callum J, Rizoli S. An approach to transfusion and hemorrhage in trauma: current perspectives on restrictive transfusion strategies. *Can J Surg* 2007;50(3):202-209.
- [132] Tilley R, Mackman N. Tissue factor in hemostasis and thrombosis. *Semin Thromb Hemost* 2006;32(1):5-10.
- [133] Tinmouth AT, McIntyre LA, Fowler RA. Blood conservation strategies to reduce the need for red blood cell transfusion in critically ill patients. *CMAJ* 2008;178(1):49-57.
- [134] Tirado I, Mateo J, Soria JM, et al. The ABO blood group genotype and factor VIII levels as independent risk factors for venous thromboembolism. *Thromb Haemost* 2005;93(3):468-474.

- 
- [135] Tonnessen T, Tollofsrud S, Kongsgaard UE, Noddeland H. Colloid osmotic pressure of plasma replacement fluids. *Acta Anaesthesiol Scand* 1993;37(4):424-426.
- [136] Tosetto A, Rodeghiero F, Castaman G, et al. A quantitative analysis of bleeding symptoms in type 1 von Willebrand disease: results from a multicenter European study (MCMDM-1 VWD). *J Thromb Haemost* 2006;4(4):766-773.
- [137] Treib J, Haass A, Pindur G, Grauer MT, Wenzel E, Schimrigk K. All medium starches are not the same: influence of the degree of hydroxyethyl substitution of hydroxyethyl starch on plasma volume, hemorrheologic conditions, and coagulation. *Transfusion* 1996;36(5):450-455.
- [138] Treib J, Haass A, Pindur G, Grauer MT, Wenzel E, Schimrigk K. Decrease of fibronectin following repeated infusion of highly substituted hydroxyethyl starch. *Infusionsther Transfusionsmed* 1996;23(2):71-75.
- [139] Treib J, Haass A, Pindur G, et al. Highly substituted hydroxyethyl starch (HES200/0.62) leads to Type-I von Willebrand syndrome after repeated administration. *Haemostasis* 1996;26(4):210-213.
- [140] van Den Brink WA, van Genderen P, Thijsse WJ, Michiels JJ. Hetastarch coagulopathy. *J Neurosurg* 1996;85(2):367; author reply 368.
- [141] Vincent JL, Baron JF, Reinhart K, et al. Anemia and blood transfusion in critically ill patients. *JAMA* 2002;288(12):1499-1507.
- [142] von Roten I, Madjdpour C, Frascarolo P, et al. Molar substitution and C2/C6 ratio of hydroxyethyl starch: influence on blood coagulation. *Br J Anaesth* 2006;96(4):455-463.
- [143] Waitzinger J, Bepperling F, Pabst G, Opitz J, Muller M, Francois Baron J. Pharmacokinetics and Tolerability of a New Hydroxyethyl Starch (HES) Specification [HES (130/0.4)] after Single-Dose Infusion of 6% or 10% Solutions in Healthy Volunteers. *Clin Drug Investig* 1998;16(2):151-160.
- [144] Watson GA, Sperry JL, Rosengart MR, et al. Fresh frozen plasma is independently associated with a higher risk of multiple organ failure and acute respiratory distress syndrome. *J Trauma* 2009;67(2):221-227; discussion 228-230.
- [145] Weiss HJ, Sussman II, Hoyer LW. Stabilization of factor VIII in plasma by the von Willebrand factor. Studies on posttransfusion and dissociated factor VIII and in patients with von Willebrand's disease. *J Clin Invest* 1977;60(2):390-404.
- [146] Weisshaar E, Iro H, Zenk J. Hydroxyethylstärke-induzierter Pruritus: Eine unterschätzte und hartnäckige medikamentöse Nebenwirkung auch bei HNO-ärztlichen Erkrankungen. *Laryngorhinootologie* 2009;88(9):604-608.
- [147] Westphal M, James MF, Kozek-Langenecker S, Stocker R, Guidet B, Van Aken H. Hydroxyethyl starches: different products - different effects. *Anesthesiology* 2009;111(1):187-202.
- [148] Wilkes NJ, Woolf R, Mutch M, et al. The effects of balanced versus saline-based hetastarch and crystalloid solutions on acid-base and electrolyte status and gastric mucosal perfusion in elderly surgical patients. *Anesth Analg* 2001;93(4):811-816.
- [149] Woods AI, Blanco AN, Chuit R, et al. Major haemorrhage related to surgery in patients with type 1 and possible type 1 von Willebrand disease. *Thromb Haemost* 2008;100(5):797-802.



## Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

### Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.1	Molekülstruktur von A. Amylopektin und B. Hydroxyethylstärke (Autor: Roland Mattern) .....	1
Abbildung 2.1	Studiendesign .....	12
Abbildung 2.2	Schematische Darstellung der Thrombelastometrie .....	19
Abbildung 2.3	ROTEM® Beispiel mit Darstellung der Phasen und Messparameter .....	19
Abbildung 3.1	CT und CFT in Sekunden im EXTEM-Test nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit nicht-balancierter (nbal), iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES .....	31
Abbildung 3.2	MCF im EXTEM- und FIBTEM-Test und Darstellung des thrombozytären Anteils an der MCF ( $MCF_{Plt}$ ) in Millimeter nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit nicht-balancierter (nbal), iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES .....	33
Abbildung 3.3	CT und CFT in Sekunden im EXTEM-Test nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit Elektrolyt-balancierter (bal), iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES .....	38
Abbildung 3.4	MCF im EXTEM- und FIBTEM-Test und Darstellung des thrombozytären Anteils an der MCF ( $MCF_{Plt}$ ) in Millimeter nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit Elektrolyt-balancierter (bal), iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES .....	40
Abbildung 3.5	CT und CFT in Sekunden im EXTEM-Test nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit isoonkotischer (6 %), nicht-balancierter (nbal) versus Elektrolyt-balancierter (bal) HES .....	44
Abbildung 3.6	MCF im EXTEM- und FIBTEM-Test und Darstellung des thrombozytären Anteils an der MCF ( $MCF_{Plt}$ ) in Millimeter nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit isoonkotischer (6 %), nicht-balancierter (nbal) versus Elektrolyt-balancierter (bal) HES .....	45
Abbildung 3.7	CT und CFT in Sekunden im EXTEM-Test nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit hyperonkotischer (10 %), nicht-balancierter (nbal) versus Elektrolyt-balancierter (bal) HES .....	49
Abbildung 3.8	MCF im EXTEM- und FIBTEM-Test und Darstellung des thrombozytären Anteils an der MCF ( $MCF_{Plt}$ ) in Millimeter nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit hyperonkotischer (10 %), nicht-balancierter (nbal) versus Elektrolyt-balancierter (bal) HES .....	50

### Tabellenverzeichnis

Tabelle 1.1	Übersicht über Publikationen zum Einfluss der HES-Konzentration und/oder der Zusammensetzung der Trägerlösung auf die HES-induzierte Koagulopathie: HES-Präparationen in mehr als einem Aspekt unterschiedlich .....	4
Tabelle 1.2	Übersicht über Publikationen zum Einfluss der HES-Konzentration oder der Zusammensetzung der Trägerlösung auf die HES-induzierte Koagulopathie: HES-Präparationen in einem Aspekt unterschiedlich .....	5
Tabelle 2.1	Physikochemische Eigenschaften der Volumenersatzlösungen für die <i>in vitro</i> -Hämodilution entsprechend den Herstellerangaben .....	14
Tabelle 2.2	Referenzbereiche der verwendeten EXTEM- und FIBTEM-Parameter .....	21
Tabelle 3.1	Probandencharakteristika .....	24
Tabelle 3.2	Laborparameter in den Baseline-Messungen .....	25
Tabelle 3.3	Thrombelastometrie-Parameter in den Baseline-Messungen .....	25
Tabelle 3.4	Dilutionskontrolle mit dem Hämatokrit-Wert .....	26

Tabelle 3.5	Konventionelle Gerinnungsparameter nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit nicht-balancierter, iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES .....	28
Tabelle 3.6	Thrombozytenzahl und vWF-Parameter nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit nicht-balancierter, iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES .....	29
Tabelle 3.7	CT in Sekunden im EXTEM-Test nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit nicht-balancierter, iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES .....	30
Tabelle 3.8	CFT in Sekunden im EXTEM-Test nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit nicht-balancierter, iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES .....	30
Tabelle 3.9	MCF in Millimeter im EXTEM-Test nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit nicht-balancierter, iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES .....	32
Tabelle 3.10	MCF in Millimeter im FIBTEM-Test nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit nicht-balancierter, iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES .....	32
Tabelle 3.11	MCF <sub>PfT</sub> in Millimeter nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit nicht-balancierter, iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES .....	32
Tabelle 3.12	Konventionelle Gerinnungsparameter nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit Elektrolyt-balancierter, iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES .....	35
Tabelle 3.13	Thrombozytenzahl und vWF-Parameter nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit Elektrolyt-balancierter, iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES .....	36
Tabelle 3.14	CT in Sekunden im EXTEM-Test nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit Elektrolyt-balancierter, iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES .....	37
Tabelle 3.15	CFT in Sekunden im EXTEM-Test nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit Elektrolyt-balancierter, iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES .....	37
Tabelle 3.16	MCF in Millimeter im EXTEM-Test nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit Elektrolyt-balancierter, iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES .....	39
Tabelle 3.17	MCF in Millimeter im FIBTEM-Test nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit Elektrolyt-balancierter, iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES .....	39
Tabelle 3.18	MCF <sub>PfT</sub> in Millimeter nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit Elektrolyt-balancierter, iso- (6 %) versus hyperonkotischer (10 %) HES .....	39
Tabelle 3.19	Konventionelle Gerinnungsparameter nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit isoonkotischer (6 %), nicht-balancierter versus Elektrolyt-balancierter HES .....	42
Tabelle 3.20	Thrombozytenzahl und vWF-Parameter nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit isoonkotischer (6 %), nicht-balancierter versus Elektrolyt-balancierter HES .....	43
Tabelle 3.21	Konventionelle Gerinnungsparameter nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit hyperonkotischer (10 %), nicht-balancierter versus Elektrolyt-balancierter HES .....	47
Tabelle 3.22	Thrombozytenzahl und vWF-Parameter nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit hyperonkotischer (10 %), nicht-balancierter versus Elektrolyt-balancierter HES .....	48
Tabelle 3.23	Absolute Werte von FVIII und der vWF-Parameter nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit nicht-balancierter isoonkotischer (6 %) HES (BG 0 vs. A) .....	52
Tabelle 3.24	FVIII <sub>rel</sub> und vWF-Parameter <sub>rel</sub> nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit nicht-balancierter isoonkotischer (6 %) HES (BG 0 vs. A) .....	53
Tabelle 3.25	Absolute Werte von FVIII und der vWF-Parameter nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit nicht-balancierter hyperonkotischer (10 %) HES (BG 0 vs. A) .....	54
Tabelle 3.26	FVIII <sub>rel</sub> und vWF-Parameter <sub>rel</sub> nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit nicht-balancierter hyperonkotischer (10 %) HES (BG 0 vs. A) .....	55
Tabelle 3.27	Absolute Werte von FVIII und der vWF-Parameter nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit Elektrolyt-balancierter isoonkotischer (6 %) HES (BG 0 vs. A) .....	56

---

Tabelle 3.28	FVIII <sub>rel</sub> und vWF-Parameter <sub>rel</sub> nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit Elektrolyt-balancierter isoonkotischer (6 %) HES (BG 0 vs. A) .....	57
Tabelle 3.29	Absolute Werte von FVIII und der vWF-Parameter nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit Elektrolyt-balancierter hyperonkotischer (10 %) HES (BG 0 vs. A) .....	59
Tabelle 3.30	FVIII <sub>rel</sub> und vWF-Parameter <sub>rel</sub> nach <i>in vitro</i> -Hämodilution mit Elektrolyt-balancierter hyperonkotischer (10 %) HES (BG 0 vs. A) .....	60

## **Lebenslauf**

*Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.*

---

## Publikationsverzeichnis

### Vorab publizierte Ergebnisse

---

Teile der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden vor Abschluss des Promotionsverfahrens veröffentlicht:

Rau J, Rosenthal C, Keller M et al. Dilutionskoagulopathische Effekte moderner, iso- und hyperonkotischer Hydroxyethylstärke-Lösungen *in vitro*. Deutscher Anästhesiecongress (DAC) 2010, Nürnberg, Deutschland. *Poster*

Rosenthal C, Rau J, Sander M et al. Der Einfluss der Trägerlösung in der HES-induzierten Dilutionskoagulopathie iso- und hyperonkotischer Präparationen *in vitro*. Deutscher Anästhesiecongress (DAC) 2010, Nürnberg, Deutschland. *Poster*

### Themenverwandte Publikation

---

Rau J, von Heymann C. Letter to the editor. *Perfusion*. 2012; 27(3):257

### Themenverwandte Posterpräsentationen

---

Rau J, Rosenthal C, Sander M et al. Hemodilution with modern volume replacement solutions – effects on coagulation parameters as measured by non-activated thrombelastometry. 54. Jahrestagung der Gesellschaft für Thrombose und Hämostaseforschung (GTH) 2010, Nürnberg, Deutschland. *Poster*

Rosenthal C, Rau J, Sander M, Keller M, von Heymann C. Role of plasma levels of ionized calcium on non-activated thrombelastometry *ex vivo*. 54. Jahrestagung der Gesellschaft für Thrombose und Hämostaseforschung (GTH) 2010, Nürnberg, Deutschland. *Poster*

Rosenthal C, Spies C, Volk T, Rau J, Ziemer S, von Heymann C. Unterschiedliche dilutionskoagulopathische Effekte balancierter und nicht balancierter Gelatine- und Hydroxyethylstärke-Lösungen *in-vitro*. Deutscher Anästhesiecongress (DAC) 2009, Leipzig, Deutschland. *Poster*.

Rosenthal C, Rau J, Volk T, Spies C, Ziemer S, von Heymann C. The effect of citrate substitution in *in vitro* studies on dilutional coagulopathy. 53. Jahrestagung der Gesellschaft für Thrombose und Hämostaseforschung (GTH) 2009, Wien, Österreich. *Poster*

### Weitere Publikationen

---

Schröder T, Rau J, Volk T. Simulationstraining im OP für mehr Patientensicherheit. *Periop Med* 2009;1(1):44-49.

Schröder T, von Heymann CH, Ortwein H, Rau J, Wernecke KD, Spies C. Simulationsbasiertes "Anaesthesia-Crisis-Resource-Management-Training". *Anaesthesist*. 2009;58(10):992-1004

## Erklärung

„Ich, Wiebke Juliane Rau, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema:

*Einfluss unterschiedlicher moderner Hydroxyethylstärke-lösungen auf das plasmatische Gerinnungssystem, die Funktion des von-Willebrand-Systems und die mittels Thrombelastometrie gemessenen dynamischen Funktionsparameter der Gerinnung in einem in vitro-Hämodilutionsmodell*

selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum

Unterschrift

## **Danksagung**

Prof. Dr. med. Christian von Heymann danke ich für die Überlassung des Themas, die umfassende Betreuung und die kontinuierliche Förderung meiner wissenschaftlichen Arbeit.

Bei Dr. med. Christoph Rosenthal bedanke ich mich für die Einarbeitung in das Thema und die Methodik, die konstruktive Kritik in der Betreuung dieser Dissertation und die fortwährende Motivation. Dr. med. Sabine Ziemer, Dr. med. Elisabeth Langer und den Mitarbeitern des Instituts für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Pathobiochemie der Charité – Universitätsmedizin Berlin danke ich für die Möglichkeit der Forschung in ihren Laboren und die Hilfe bei technischen Fragen und Problemen. Den Kollegen aus dem Institut für Medizinische Diagnostik Oderland danke ich für die Messungen der konventionellen Gerinnungsparameter.

Ganz herzlich danke ich all den Personen aus meinem persönlichen Umfeld, die mich auf vielfältige Art und Weise in der Entstehung dieser Arbeit unterstützt haben.