

Universität Ulm

Institut für Anästhesiologische Pathophysiologie und
Verfahrensentwicklung (APV)

Institutsdirektor: Prof. Dr. med. Dr. h. c. Peter Radermacher

**Einfluss unterschiedlicher Körpertemperaturen auf die Parameter
der Blutgerinnung im Modell des Hämorrhagischen Schocks beim
Schwein**

DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Ulm

vorgelegt von

Nicole Stefanie Strobl

geboren in Heidenheim

2015

Amtierender Dekan: Prof. Dr. Thomas Wirth

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. Peter Radermacher

2. Berichterstatter: Priv-Doz. Dr. Herbert Schöchl

Tag der Promotion: 27.04.2017

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	III
1. Einleitung.....	1
1.1 Äthiologie, Bedeutung und Therapie des hämorrhagischen Schocks	1
1.2 Pathophysiologie des hämorrhagischen Schocks	2
1.3 Hypothermie	3
1.4 Das Blutgerinnungssystem	5
1.5 Koagulopathie	10
1.6 Messung der Blutgerinnung	12
1.7 Fragestellung	14
2. Material und Methoden.....	15
2.1 Geräte und Materialien	15
2.2 Der Versuchsablauf am Großtiermodell	22
2.3 Die Kühlung	28
2.4 Das Thrombelastogramm	29
2.5 Thrombin-Antithrombin-Komplex	36
2.6 Thrombozytenzahl	37
2.7 Blutgasanalyse	40
2.8 Statistische Auswertung	40
3. Ergebnisse.....	42
3.1 Allgemeine Anmerkungen	42
3.2 Körperkerntemperatur, Hämodynamik und art. Blutgasanalyse	43
3.3 Thrombozyten	48
3.4 Thrombin-Antithrombin-Komplex	50
3.5 EXTEM	52
3.6 HEPTEM	63
3.7 APTEM	74
3.8 FIBTEM	84

4. Diskussion.....	89
4.1 Das Versuchstier und der Versuchsablauf	90
4.2 Hämodynamische und metabolische Parameter	92
4.3 Thrombozyten	93
4.4 Thrombin-Antithrombin-Komplex	94
4.5 Thrombelastometrie	96
4.6 Schlussfolgerungen und Grenzen	100
5. Zusammenfassung.....	103
6. Literaturverzeichnis.....	105
Danksagung.....	113
Lebenslauf.....	114

Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
<	kleiner als
°	Grad
°C	Grad Celsius
A.	Arteria (Arterie)
α	alpha
Abb.	Abbildung
ACT	acute coagulopathy of trauma
ADH	Antidiuretisches Hormon
ADP	Adenosindiphosphat
ANOVA	Analysis of Variance
ANP	Atriales natriuretisches Peptid
APC	aktiviertes Protein C
aPTT	aktivierte partielle Thromboplastinzeit
art.	arteriell
ASS	Acetylsalicylsäure
AT	Antithrombin
ATIII	Antithrombin III
ATP	Adenosintriphosphat
BE	Base Excess

bzw.	beziehungsweise
Ca ²⁺	Calcium-Ion
Ca ⁺⁺	Calcium-Ion
CFT	Clotting-Formation-Time; Gerinnselbildungszeit
CH	Charrière; Maß für den Außendurchmesser von Kanülen und Kathetern
cm	Zentimeter
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
COLD	Circulation Oxygenation Liver Function Diagnostic
CPD	Zitrat, Phosphaat, Dextrose-Puffer; Stabilisator für Blutprodukte
CT	Clotting-Time; Gerinnungszeit
DGU	Deutsche Gesellschaft für Unfallchirurgie
DIC	Disseminierte intravasale Gerinnung
dl	Deziliter
DMSO	Dimethylsulfoxid
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EKG	Elektrokardiogramm
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
F	French
FiO ₂	inspiratorische Sauerstoffkonzentration

G	Gauge; Durchmesserangabe bei Venenverweilkanülen
g	Erdbeschleunigung
ggf.	gegebenenfalls
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
GP	Glycoproteinrezeptor
H ⁺	Wasserstoff-Ion
h	Stunde
H ₂ O	Wasser
HES	Hydroxyethylstärke
HF	Herzfrequenz
Hg	Quecksilber
HMWK	high-molecular weight kininogen
HZV	Herzzeitvolumen
I	Römisch eins
II	Römisch zwei
III	Römisch drei
IX	Römisch neun
INR	International Normalized Ratio
ISS	Injury Severity Score
i.v.	intravenös
ITBV	intrathorakales Blutvolumen

K	Kelvin
KCl	Kaliumchlorid
KG	Körpergewicht
kg	Kilogramm
KK	Kallikrein
l	Liter
LI	Lysis-Index
m	männlich
MAP	mittlerer arterieller Blutdruck
MCF	Maximum-Clot-Firmness; max. Gerinnselfestigkeit
mg	Milligramm
µg	Mikrogramm
min.	Minute, Minuten
ML	Maximum-Lysis
ml	Milliliter
µl	Mikroliter
mm	Millimeter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mmol	Millimol
mU	Milliunit
mval	Millival

MZP	Messzeitpunkt
n	Fallzahl, Anzahl der Versuchstiere
Na	Natrium
NaCl	Natriumchlorid
NO	Stickstoffmonoxid
O ₂	Sauerstoff
OP	Operationssaal
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
PAI-1	Plasminogenaktivator-Inhibitor Typ 1
PAOP	Pulmonary Artery Occlusion Pressure
paCO ₂	arterieller Kohlenstoffdioxidpartialdruck
paO ₂	arterieller Sauerstoffpartialdruck
pCO ₂	Kohlendioxidpartialdruck
PDGF	platelet-derived growth factor
PEEP	positiver endexpiratorischer Druck
pH	pH-Wert; Maß für die Aktivität von Protonen einer wässrigen Lösung
PKK	Plasma-Präkallikrein
PL	Phospholipid
PTT	Prothrombinzeit
s	Sekunden
SD	Standardabweichung

sog.	sogenannte
TAFI	Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor
TAT	Thrombin-AntithrombinIII-Komplex
TEG	Thrombelastogramm
Temp.	Temperatur
TF	tissue factor; Gewebefaktor
TFPI	Tissue factor pathway inhibitor
t-PA	Tissue-Plasminogen Activator
U	Umdrehungen
U	Units
V	Römisch fünf
V.	Vena (Vene)
VII	Römisch sieben
VIII	Römisch acht
vs.	versus
vWF	von Willebrand-Faktor
w	weiblich
X	Römisch zehn
XI	Römisch elf
XII	Römisch zwölf
XIII	Römisch dreizehn
z.B.	zum Beispiel

ZVD

zentraler Venendruck

ZVK

Zentraler Venenkatheter

1. Einleitung

1.1 Äthiologie, Bedeutung und Therapie des hämorrhagischen Schocks

Trauma ist in der westlichen Welt die führende Todesursache bei Personen in der Altersgruppe bis 45 Jahre. 1996 starben in Deutschland insgesamt 23.549 Menschen an den Folgen eines Unfalles, obwohl die Letalität von Schwerverletzten in den letzten 20 Jahren entscheidend gesenkt werden konnte (Bardenheuer et al. 2000). Bei Jugendlichen und jungen Erwachsenen im Alter von 15 bis 25 Jahren sind Verletzungen, einschließlich der Unfälle, die Haupttodesursache. Bei Männern dieser Altersgruppe verursachen sie über 60, bei Frauen über 40 Prozent der Todesfälle (Statistisches Bundesamt 2015). Der hämorrhagische Schock ist eine der Haupttodesursachen beim Trauma (Martini et al. 2008; Corredor et al. 2014). Traumaassoziierte Todesfälle haben einen dreigipfligen Verlauf: 50% der Verletzten sterben innerhalb der ersten Minuten nach dem Ereignis aufgrund von massivem Blutverlust oder schwersten neurologischen Schäden. Weitere 30% sterben innerhalb der nächsten zwei Tage an neurologischer Dysfunktion, die verbleibenden 20% an den Folgen einer Sepsis oder an Multiorganversagen Tage bis Wochen nach dem Trauma (Maerz et al. 2009). Traumapatienten haben jedoch zusätzlich mit weiteren Problemen zu kämpfen: Azidose, akzidentelle Hypothermie, sowie Koagulopathie (Mikhail 1999).

Aus einer Analyse des Traumaregisters der DGU geht hervor, dass ein Schwerverletzter durchschnittlich 70 Minuten bis zur Klinikeinweisung auf der Straße verbringt (Wofl et al. 2009). Die Standardtherapie bei hämorrhagischem Schock sieht die Gabe von kristalloiden Lösungen vor, um das fehlende Blutvolumen auszugleichen und den Blutdruck entsprechend anzuheben, um die Zeit bis zur endgültigen chirurgischen Versorgung zu überbrücken (Santry u. Alam 2010).

1.2 Pathophysiologie des hämorrhagischen Schocks

Hämorrhagischer Schock ist definiert als ein Fehlen einer adäquaten Gewebsperfusion aufgrund von Blutverlust (Garrioch 2004). Durch den Blutverlust kommt es beim hämorrhagischen Schock über die verminderte Wandspannung in den großen Arterien zu einer Aktivierung des adrenergen Systems. Die zirkulierenden Stresshormone stammen hauptsächlich aus der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenmark-Achse. Es kommt zu einer Ausschüttung von Adrenalin und Noradrenalin aus dem Nebennierenmark, Cortisol aus der Nebennierenrinde, Renin aus der Niere, sowie Glucagon aus dem Pankreas. Dies führt dazu, dass in der Leber die Glycogenvorräte verbraucht, und Fettsäuren via Lipolyse aus dem Fettgewebe freigesetzt werden (Garrioch 2004). Die Ausschüttung von Katecholaminen führt des Weiteren zu einer Konstriktion von peripheren Arteriolen. So kommt es zu einer Umverteilung des Blutvolumens beispielsweise aus der Haut und aus dem Splanchnikusgebiet hin zu lebenswichtigen Organen wie Herz und Gehirn. Die sympathikusbedingte Konstriktion der venösen Kapazitätsgefäße, die Tachykardie und die positive Inotropie heben das zuvor verminderte Herzzeitvolumen wieder etwas an. Aus den Vorhofmyokardzellen wird durch verminderte Dehnung der Vorhöfe die Ausschüttung von ANP verhindert, was wiederum eine Sekretion von ADH auslöst (Gauer-Henry-Reflex). ADH wirkt vasokonstriktorisch und wasserretinierend. Der abfallende Blutdruck in der Niere bewirkt, dass das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System in Gang gesetzt wird, welches neben Durstgefühl zu Vasokonstriktion und verminderter Nierendurchblutung führt. So kommt als weiteres Symptom die Oligurie zustande. Weiter kommt es durch die Hypotonie und die periphere Vasokonstriktion zu einer Verminderung des effektiven kapillären Filtrationsdruckes, so dass interstitielle Flüssigkeit in die Gefäße einströmen kann (Silbernagl et al. 2007).

Die verminderte Gewebsperfusion führt zu einer Veränderung im Zellstoffwechsel. Wenn nicht mehr genügend O₂ zur Verfügung steht, erfolgt die Energiegewinnung mittels anaerober Glycolyse. Als Nebenprodukt entsteht Laktat, was zu einer metabolischen (Laktat-)Azidose führt. Fällt der pH unter 7,2 sind verminderte

kardiale Kontraktilität, vermindertes HZV, Vasodilatation mit Hypotension, verminderter hepatischer und renaler Blutfluss, Bradykardie und erhöhte Anfälligkeit für Herzrhythmusstörungen die Folge (Mikhail 1999). Das arterielle und venöse Bikarbonat-Level, sowie der Base Excess sinken schon früh im hämorrhagischen Schock, auch wenn pH und Blutdruck noch normwertig sind (Davis et al. 1998) Hypothermie, Azidose und Koagulopathie bilden einen Circulus vitiosus bei Traumapatienten (Martini et al. 2005; Gonzalez Balverde et al. 2013).

1.3 Hypothermie

Die Mehrzahl der schwerverletzten Patienten ist hypotherm (Luna et al. 1987). Akzidentelle Hypothermie ist definiert als ein Zustand mit unbeabsichtigtem Abfallen der Körperkerntemperatur unter 35°C ohne Störung der intrinsischen Wärmeregulation. Sie gilt als prognostisch ungünstiger Faktor bei Traumapatienten (Segers et al. 1998) und ist mit einer stark erhöhten Sterblichkeit assoziiert (Krause et al. 2000).

Hypothermie wird abhängig von der Körperkerntemperatur in drei Schweregrade eingeteilt:

Tab. 1: Einteilung der Hypothermie in Schweregrade (Segers et al. 1998)

°C = Grad Celsius

	Traditionell	Trauma
Milde Hypothermie	35 bis 32°C	35 bis 34°C
Moderate Hypothermie	32 bis 28°C	34 bis 32°C
Schwere Hypothermie	<28°C	<32°C

Hypothermie entsteht, wenn der Wärmeverlust größer ist als die Möglichkeiten des Körpers Wärme zu produzieren. Dies kann beispielsweise durch Kälteexposition bei der Versorgung, nicht vorgewärmte Infusionslösungen oder Verletzungen des zentralen Nervensystems mit Störungen der Thermoregulation gefördert werden (Mikhail 1999). Als weitere Faktoren spielen Konvektion und Konduktion eine Rolle, wenn der Verletzte an einem ungeschützten Ort verunfallt, oder durch das Trauma immobil wurde (Luna et al. 1987). Auch Medikamente, die bei Trauma-Patienten eingesetzt werden, wie Opiode, Barbiturate oder Benzodiazepine generieren zentrale Thermoregulationsstörungen (Mallet 2002; Mommsen et al. 2013).

Bei milder Hypothermie steigt die Herzfrequenz und es kommt zu einer peripheren Vasokonstriktion, was zu einer Steigerung des Herzzeitvolumens führt. Der Blutdruck steigt leicht an. Bei moderater Hypothermie kommt es zu einer Bradykardie, die durch verminderte Spontandepolarisation der Schrittmacherzellen ausgelöst wird. Diese Bradykardie ist atropinrefraktär. Der systemische Gefäßwiderstand steigt an (Mallet 2002).

Auch im Blut werden Veränderungen sichtbar: die Blutviskosität, die Fibrinogenkonzentration und der Hämatokrit steigen an. Die Gefäßpermeabilität nimmt bei Hypothermie zu, was zu einem Ausstrom von Plasma in extravaskuläre Kompartimente führt. Zudem werden vielfältige negative Einflüsse auf das Gerinnungssystem beschrieben (Mallet 2002).

Im zentralen Nervensystem äußert sich die Hypothermie folgendermaßen: initial treten Verwirrung oder Amnesie auf. Bei weiter fallender Temperatur können Symptome wie Dysarthrie, fehlendes Urteilsvermögen, Apathie und Koma beobachtet werden. Bei milder Hypothermie kommt Kältezittern vor, was jedoch mit weiter abnehmender Temperatur sistiert. Bei schwerer Hypothermie tritt Muskel- und Gelenksteifigkeit ein (Mallet 2002).

Milde Hypothermie führt außerdem zu einer initialen Tachypnoe, der eine Reduktion des Atemminutenvolumens und ein Bronchospasmus folgt. Die Schutzreflexe erlöschen und O₂-Verbrauch und CO₂-Produktion nehmen drastisch ab (um 40 -

50% bei 30°C Körperkerntemperatur). Schwere Hypothermie führt zu Hypoventilation und Apnoe.

Bei der Nierenfunktion äußert sich milde Hypothermie mit einer „Kälte-diurese“. Mit weiter abfallender Körpertemperatur fällt auch die Glomeruläre Filtrationsrate, sowie die Fähigkeit zur Elimination von H⁺-Ionen. Dies hat eine Azidose zur Folge (Mallet 2002). Das Absenken der Körperkerntemperatur verschiebt die O₂-Bindungskurve nach links, so dass während der schweren Hypothermie deutlich weniger O₂ von den Erythrozyten abgegeben werden kann als bei Normothermie (Alam et al. 2004).

Ansätze in unterschiedlichen Fachbereichen beweisen jedoch den protektiven Effekt von therapeutischer Hypothermie. Therapeutische Hypothermie wird ebenfalls wie oben beschrieben in milde, moderate und schwere therapeutische Hypothermie eingeteilt. Bereits in den 1950er Jahren wurden einzelne Patienten nach Herz-Kreislaufstillstand erfolgreich mit therapeutischer Hypothermie behandelt (Sanders 2006). Therapeutisch eingesetzt wird diese Art der Hypothermie beispielsweise auch bei Operationen im Bereich des Aortenbogens (Howells et al. 1998). Bei der therapeutischen Hypothermie werden die Stoffwechselfvorgänge reduziert und der O₂-Verbrauch in der kritischen Phase gesenkt. So verbessert die therapeutische Hypothermie das Outcome nach Reanimation bei Herz-Kreislaufstillstand (Holzer et al. 2002). Die Hypothermie führt dabei zu einer, in diesem Fall positiven, Reduktion der Herzfrequenz (Bergman et al. 2010).

1.4 Das Blutgerinnungssystem

Das komplexe Zusammenspiel von pro- und antikoagulatorischen Prozessen sorgt für eine präzise, zielgerichtete Blutstillung, ohne unnötige Einschränkung der Durchblutung des restlichen Gewebes. Diese pro- und antikoagulatorischen Mechanismen stehen im gesunden Organismus in einem fein abgestimmten

Gleichgewicht. Die zellulären und plasmatischen Komponenten der Blutgerinnung sind stark voneinander abhängig (Aird 2005; Stassen et al. 2004; Monroe u. Hoffman 2006).

Die Blutgerinnung setzt sich aus aufeinanderfolgenden biochemischen Reaktionen zusammen, die durch proteolytische Enzyme beeinflusst werden. Gerinnungsfaktoren liegen als inaktive Proenzyme im Plasma vor. Sie werden in einer kaskadenartigen Reaktionsfolge durch proteolytische Spaltung in aktive Enzyme überführt (Norris 2003; Stassen et al. 2004). Über positive und negative Rückkopplungsmechanismen wird der Prozess weiter reguliert und angepasst.

Physiologische Inhibitoren im Plasma sorgen dafür, dass Blutgerinnung nur am Ort der Verletzung stattfindet. Diese Proteaseinhibitoren verhindern an verschiedenen Stellen der Gerinnungskaskade überschießende Aktivierung (Triplett 2000).

Das Blutgerinnungssystem besteht aus Thrombozytenaggregation, plasmatischer Gerinnung und Fibrinolyse, was als primäre, sekundäre und tertiäre Gerinnung bezeichnet wird (Stassen et al. 2004).

Die primäre Hämostase wird durch Veränderungen an den Oberflächen der Blutgefäße ausgelöst. Dies können beispielsweise Verletzungen der Gefäßwände, degenerativ oder entzündlich veränderte Gefäße, aber auch iatrogen eingefügtes Material sein (Colman u. Schmaier 1997; Edmunds 1993; Edmunds 1993; Kaplan et al. 1997a; Courtney u. Forbes 1994). Die Thrombozyten interagieren dabei mit subendothelialen Strukturen wie z.B. Kollagenfasern, was zur Bildung eines „Plättchenpfropfes“ führt (Triplett 2000). Dabei findet zunächst eine reversible Anlagerung der Thrombozyten an das Kollagen statt. Von Willebrand-Faktor (vWF) spielt dabei als Bindeglied über den Glycoprotein-Ib-IX-Rezeptor des Thrombozyten eine wichtige Rolle. Durch diese Bindung werden die Thrombozyten stimuliert: Es kommt zu einer Veränderung des Cytoskeletts, einer Calcium-Mobilisation, sowie einer Integrin-Aktivierung (Stassen et al. 2004). Zudem werden die intrazellulären Granula entleert. Aus den α -Granula wird z.B. Thrombospondin, Fibrinogen, vWF und PDGF freigesetzt. In den Dense-Bodies ist ADP, ATP und Serotonin enthalten. Dies führt zu einer weiteren Adhäsion von Thrombozyten und zu Vasokonstriktion.

Schließlich werden die Thrombozyten durch Fibrin, das Endprodukt der sekundären Gerinnung, miteinander vernetzt. Der primäre Pfropf wird dadurch belastbar (Triplett 2000).

Die Endothelzellen spielen ebenfalls eine wichtige Rolle bei der Blutgerinnung. Sie produzieren einige Substanzen, die in das Gerinnungssystem eingreifen. Stoffe, die antikoagulatorisch wirken sind z.B. tissue factor pathway inhibitor (TFPI), Heparansulfat, Thrombomodulin, endothelialer Protein-C-Faktor, NO und Cyclooxygenase. Prokoagulatorisch wirken z.B. tissue factor (TF), Thromboxan A₂, von Willebrand Faktor und Plasminogenaktivator-Inhibitor Typ 1 (PAI-1). Die Expression der Unterschiedlichen Stoffe variiert je nach Gefäßgebiet (Norris 2003; Aird 2005).

Die plasmatische Blutgerinnung sorgt für die benötigte Stabilisierung des Thrombozytenpfropfes. Die Bildung von Fibrin benötigt einige enzymatische Schritte. (Norris 2003).

Alle Gerinnungsenzyme, mit Ausnahme der Faktoren V und VIII, gehören zur Gruppe der Serinproteasen. Die Leber produziert eine relativ konstante Menge von Fibrinogen, Serinproteasen, Kofaktoren, sowie gerinnungshemmenden Substanzen wie Protein C, Antithrombin und Protein S (Aird 2005). Die Gerinnungsfaktoren X, IX, VII und II können dabei, ebenso wie Protein C und Protein S, nur Vitamin-K abhängig synthetisiert werden. (Triplett 2000).

Die plasmatische Gerinnung kann auf zwei verschiedenen Wegen initiiert werden: der extrinsische Pfad, der durch Gewebefaktoren (tissue factor, TF) aus Endothelzellen und Monozyten getriggert wird, und der intrinsische Pfad, der durch Kontakt mit negativ geladenen Oberflächen aktiviert wird (Steffel et al. 2006; Stassen et al. 2004; Norris 2003).

Für die extrinsische Gerinnungsaktivierung kommt es zu einem Kontakt zwischen TF und Blut. TF bindet Faktor VII. Die Aktivierung von Faktor VII zu Faktor VIIa erfolgt durch Autokatalyse oder durch andere Gerinnungsenzyme, wie Faktor IXa und Faktor Xa (Stassen et al. 2004). Dieser Komplex (TF-VIIa) triggert, unter

Hinzunahme von Ca^{2+} , die gemeinsame Endstrecke der beiden Pfade: Faktor X wird aktiviert. Zudem kann der TF-VIIa-Komplex Faktor IX in Faktor IXa umwandeln. Aktivierter Faktor X (Xa) im Komplex mit aktiviertem Faktor V (Va), Phospholipid (PL) und Ca^{2+} wandelt Prothrombin in Thrombin um. Die Faktoren Xa und Va im Komplex mit Ca^{2+} -Ionen und Phospholipid werden zusammen als Prothrombinasekomplex bezeichnet (Norris 2003; Schenone et al. 2004). Thrombin aktiviert seinerseits Fibrinogen zu Fibrinmonomeren, sowie weitere Thrombozyten, und dient als Aktivator für die Faktoren V, VIII und XIII. Die entstandenen Fibrinmonomere polymerisieren zu löslichen Fibrinmonomer-Komplexen (Norris 2003).

Das Fibringerüst muss durch Faktor XIII quervernetzt werden. Faktor XIII wird ebenfalls durch Thrombin aktiviert. Es entsteht ein unlösliches Fibrinpolymer. In dieses Fibrinpolymer wird durch Faktor XIII α_2 -Antiplasmin eingebaut. Dies soll eine verfrühte Lyse des Gerinnsels verhindern (Norris 2003).

Einige der aktivierten Proteasen, z.B. Faktor IXa, Xa, Thrombin und der TF-VIIa-Komplex können wiederum Faktor VII in Faktor VIIa verwandeln (Autofeedback) (Steffel et al. 2006; Triplett 2000). Diese positive Rückkopplung führt zu einer starken Beschleunigung der Blutgerinnung (Brummel et al. 2002).

Die Aktivierung des intrinsischen Pfades erfolgt unter Anwesenheit von negativ geladenen Oberflächen, wie z.B. Kollagenfasern. Diese negativ geladenen Oberflächen führen zu einer Aktivierung von Faktor XII zu Faktor XIIa (Kontaktaktivierung). Faktor XIIa aktiviert wiederum Plasma-Präkallikrein (PKK) zu Kallikrein (KK). Kallikrein führt zu einer beschleunigten Aktivierung von Faktor XII. Faktor XIIa aktiviert unter Mithilfe des Cofaktors high-molecular weight kininogen (HMWK) Faktor XI in Faktor XIa. Faktor XIa konvertiert wiederum Faktor IX unter Anwesenheit von Ca^{2+} in Faktor IXa. Faktor IXa wandelt Faktor VIII in Faktor VIIIa um und bildet mit diesem, sowie mit Ca^{2+} und PL der Thrombozytenmembran den Tenase-Komplex. Dieser Tenase-Komplex wandelt Faktor X in Faktor Xa um. So mündet der intrinsische Pfad in eine gemeinsame Endstrecke mit dem extrinsischen Pfad. (Mann et al. 2003b),(Davie et al. 1991),(Edmunds 1993; Kaplan et al. 1997b).

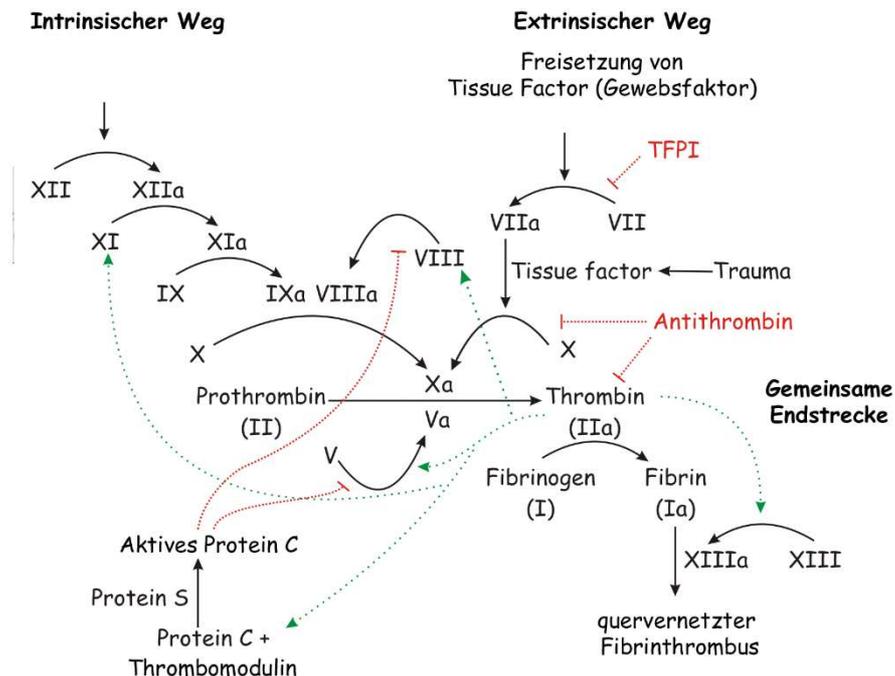


Abb. 1: Schematische Darstellung des Gerinnungssystems (Joe D;

http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Coagulation_deutsch.png (D 2007))

CC BY-SA 3.0, <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/deed.en>

abgerufen 21.Juni.2015

Darstellung der zwei unterschiedlichen Aktivierungswege der plasmatischen Gerinnung (intrinsischer und extrinsischer Weg) mit ihren kaskadenartigen Reaktionsfolgen der inaktiven Gerinnungsfaktoren durch proteolytische Spaltung in aktive Gerinnungsfaktoren.

TFPI = Tissue factor pathway inhibitor

Im menschlichen Blutgerinnungssystem gibt es auch physiologische Inhibitoren der Blutgerinnung. Damit wird sichergestellt, dass die Gerinnung nur dort stattfindet, wo sie auch gebraucht wird. Beispielsweise hemmt Antithrombin (AT) (früher Antithrombin III (ATIII)), ein in der Leber gebildetes α_2 -Globulin, die Faktoren Xa, andere Serinproteasen und Thrombin (Faktor II). Antithrombin agiert als Pseudosubstrat für Thrombin und bildet den Thrombin-Antithrombin-Komplex. Der entstehende Thrombin-Antithrombin-Komplex (TAT) lässt sich im Blut messen und gilt als Maß für die Gerinnungsaktivierung. Heparansulfat fungiert als Kofaktor für AT. Thrombin bindet auch an den endothelialen Rezeptor Thrombomodulin und verliert seine prokoagulatorischen Fähigkeiten. Thrombin-Thrombomodulin-

Komplexe aktivierten ihrerseits Protein C in aktiviertes Protein C (APC). APC inaktiviert nach Kopplung an Protein S die Faktoren V und VIII (Triplett 2000).

Ein weiterer Inhibitor ist TFPI, der die Gewebefaktoraktivität reguliert. TFPI ist ein Plasma Kunitz-Typ Serin Protease Inhibitor. TFPI bindet an Faktor Xa. Dieser Faktor Xa-TFPI-Komplex bindet wiederum mit dem Faktor VII-TF-Komplex. Dieser Komplex hat keine Aktivität mehr (Lwaleed u. Bass 2006).

Fibrin wird durch Plasmin abgebaut. Dabei wird Plasminogen z.B. durch Plasmakallikrein oder tissue-Plasminogen Activator (t-PA) zu Plasmin aktiviert. Beim Abbau des vernetzten Fibrins entstehen Fibrinopeptide, die wiederum die Thrombinbildung, sowie die Fibrinpolymerisation hemmen (Norris 2003). Auch Plasmin muss inaktiviert werden, um eine überschießende Fibrinolyse mit Blutungskomplikationen zu verhindern. Als ein wichtiger Plasmininhibitor wurde Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) identifiziert.(de Bruijne et al. 2011) TAFI wird durch Thrombin, Thrombin-Thrombomodulin-Komplexe, sowie durch Plasmin aktiviert (Schadinger et al. 2010). Desweiteren sind α_2 -Antiplasmin und PAI-1 bedeutsam. Beide werden in der Leber produziert. PAI-1 wird zusätzlich in glatten Muskelzellen und Endothelzellen produziert. α_2 -Antiplasmin ist der Haupthemmstoff des Plasmins. PAI-1 hemmt vor allem t-PA und in geringerer Weise APC (Schaller u. Gerber 2011).

1.5 Koagulopathie

Beim Traumapatienten liegt in 25 bis 30% eine Koagulopathie vor ((Rugeri et al. 2007). Die Hämorrhagie nach einem Trauma hat zwei Ursachen: mechanische Schädigung mit Blutverlust und die Koagulopathie (Watts et al. 1998b). Diese akute traumatische Koagulopathie tritt bald nach der Verletzung auf und führt zu einer vierfach erhöhten Mortalität, einem erhöhten Transfusionsbedarf, sowie zu Organschäden (Kirkpatrick et al. 1999; Chapman et al. 2015). Sie wird durch Verdünnungseffekte bei der Volumensubstitution mittels Infusionslösungen und

Blutprodukte, sowie durch die Hypothermie verstärkt (Mikhail 1999). Im hämorrhagischen Schock kann Hypoperfusion über eine Gewebeaktivierung zu einer Hyperfibrinolyse führen (Lier et al. 2009).

Als Ursachen der Koagulopathie bei Hypothermie werden sowohl die Hemmung der Enzymaktivität, der Gerinnungsfaktoren und der Thrombozyten als auch eine erhöhte Fibrinolyse diskutiert. Die Hemmung der Enzymaktivität wird durch Veränderungen der Prothrombinzeit (PT) und der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (aPTT) abgeschätzt. Eine verlängerte PT wurde sowohl bei hypothermen Patienten und experimentellen Untersuchungen an Tieren, als auch bei gekühlten Plasmaproben gefunden. Die Veränderungen der Thrombozytenfunktion bei Kälte sind weniger konstant nachweisbar, aber die Aktivierung der Thrombozyten durch Abscherkräfte ist unter 34°C deutlich herabgesetzt (Martini et al. 2005). Bei Traumapatienten mit einer Körperkerntemperatur über 33°C wurde außerdem eine Hyperkoagulabilität beobachtet, die durch die erhöhten Gewebsthromboplastinspiegel ausgelöst wird (Mikhail 1999).

Auch die Azidose führt zu einer Störung im Blutgerinnungssystem. Es wurden signifikant erhöhte PT- und aPTT-Werte, sowie erniedrigte Level von Gerinnungsfaktoren bei azidoten Traumapatienten beobachtet (Martini 2007). Bei Traumapatienten mit einem Injury Severity Score (ISS) > 25 trat eine Koagulopathie bei Vorliegen einer Azidose (pH < 7,1) in 58% der Fälle auf. Wenn diese Azidose kombiniert mit einer Hypothermie (Körperkerntemperatur <34°C) und niedrigen systolischen Blutdrücken auftrat, konnte die Koagulopathie in 98% der Fälle beobachtet werden (Cosgriff N et al. 1997). Über die zugrunde liegenden Mechanismen ist bisher wenig bekannt (Martini et al. 2007).

Des Weiteren wurde gezeigt, dass das gleichzeitige Vorliegen von Hypothermie und Hämodilution einen additiven Effekt auf die Koagulopathie hat.

1.6 Messung der Blutgerinnung

Die Untersuchung der Blutgerinnung bei Patienten gehört zur Routinediagnostik und ist bei Auffälligkeiten Ausgangspunkt für weitere Tests oder therapeutische Maßnahmen. Bestimmt werden meist die Thrombozytenzahl, Prothrombinzeit (PT) und die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT). Die Thrombozytenzahl ist ein numerischer Wert, für den bestimmte Grenzwerte bestimmt wurden. Fällt die Thrombozytenzahl unter diesen Grenzwert, besteht die Gefahr einer erhöhten Blutungsneigung. Anhand dieses Parameters wird oft entschieden, ob bestimmte Interventionen bei einem Patienten durchgeführt werden können. Bei genauerer Betrachtung ist allerdings die Funktion der Thrombozyten mindestens genauso wichtig für die Hämostase wie die Anzahl der Thrombozyten.

PT und aPTT sind die zwei am häufigsten benutzten Tests zur Beurteilung der plasmatischen Gerinnung. Zur PT-Bestimmung wird normalerweise Citratplasma verwendet, welches durch Gewebefaktor und Calcium aktiviert wird. Dieser Test dient zur Überprüfung des extrinsischen, sowie des gemeinsamen Teils der Gerinnungskaskade (Faktoren VII, V, X, II, Fibrinogen). Zur aPTT-Bestimmung wird ebenfalls Citratplasma verwendet. Jedoch dienen zur Aktivierung der Gerinnungskaskade Phospholipide und Oberflächenaktivatoren. Mit der aPTT wird der intrinsische Teil, sowie der gemeinsame Teil der Gerinnungskaskade überprüft (Faktoren XI, IX, VIII, X, V, II, Fibrinogen). Der Normalwert der Tests beinhaltet zwei Standardabweichungen eines Kollektivs an gesunden Personen. Da unterschiedliche Laboratorien unterschiedliche Aktivatoren verwenden, sind die Ergebnisse untereinander nur eingeschränkt vergleichbar (Whalen u. Tuman 1996).

Weitere Gerinnungstests (z.B. D-Dimere oder Messungen von Einzelfaktoren) werden meist nur bei Auffälligkeiten der Routinetests durchgeführt.

Thrombozytenzahl, PT und aPTT treffen typischerweise eine Aussage über die Blutgerinnung als Endpunktmessung (Sorensen et al. 2005) und betrachten jeweils nur einen Teilaspekt des Gerinnungsprozesses. Somit ergibt sich eine eingeschränkte Aussagekraft dieser Tests.

Im Gegensatz dazu ist die Thrombelastometrie ein exzellenter Test zur Interpretation der gesamten dynamischen Gerinnungssituation. Schnell kann die Interaktion von Thrombozyten, der Gerinnungskaskade und eine möglichen Lyse erfasst werden (Spoerke et al. 2010) (Sorensen et al. 2005). Die Thrombelastometrie ist ein Test, der patientennah durchgeführt werden kann (Point-of-care Test) und dessen Ergebnisse bereits nach etwa 30 min. vorliegen (Salooja u. Perry 2001).

Die Thrombelastographie wurde bereits 1948 von Hartert in Heidelberg entwickelt (Hartert 1948). Seither wurde die Thrombelastographie (TEG) ständig weiterentwickelt und modifiziert. Derzeit ist sie unter dem Namen „Rotatiosthrombelastometrie“ (ROTEM®) im Handel.

In vielen Kliniken wird die TEG heute zur Diagnostik und Therapiesteuerung eingesetzt. Erfahrungen liegen beispielsweise bei Herz- und Leberoperationen (Tuman et al. 1994) und bei Patienten mit Polytrauma und Intensivtherapie vor (Salooja u. Perry 2001).

Doch obwohl PT und aPTT die Standard-Messverfahren im klinischen Alltag sind, wurden Unterschiede zwischen der klinischen Koagulabilität des Patienten und den normalen PT-Messwerten berichtet. Als mögliche Erklärung kommt in Betracht, dass PT und aPTT in klinischen Laboratorien bei einer Standard-Temperatur von 37°C gemessen wird, was möglicherweise die Temperatureffekte auf die Enzymaktivität maskiert (Martini et al. 2005).

In der Thrombelastometrie ist eine Messung bei verschiedenen Temperaturen möglich. Dies erlaubt eine Bestimmung der Gerinnungsparameter mit der Temperatur, die auch im Patienten herrscht.

1.7 Fragestellung

Insgesamt sind die Ergebnisse zum Thema Blutgerinnung bei hypothermen Versuchstieren im hämorrhagischen Schock sehr inhomogen. Der hier verwendete Versuchsaufbau soll nun untersuchen, inwiefern die therapeutische Hypothermie mit 32°C oder 35°C gegenüber der Normothermie (38°C) im hämorrhagischen Schock Auswirkungen auf die Blutgerinnung hat.

Als Versuchstier wurde das Schwein ausgewählt, da es anatomisch, metabolisch, sowie physiologisch und pathophysiologisch von den in Frage kommenden Spezies die größte Homologie mit dem Menschen besitzt (Dodds 1982; Velik-Salchner et al. 2006) und wiederholte Blutentnahmen, sowie die chirurgische Instrumentierung gut möglich sind. Die Versuche wurden unter Bedingungen durchgeführt, die eine Versorgung eines Patienten mit hämorrhagischen Schock auf einer Intensivstation widerspiegeln.

Die verminderte Körperkerntemperatur wurde über einen in eine Halsvene eingeführten Kühlkatheter induziert, welcher mit kühler Flüssigkeit gespült wurde. Dies ermöglichte eine exakte Steuerbarkeit der Körperkerntemperatur des Versuchstieres. In anderen Versuchsgruppen wurden meist gekühlte Infusionslösungen, extern applizierte Coolpacks oder eine aufwändige Kühlung des Blutes mittels extracorporaler Verfahren verwendet (Krause et al. 2000; Holcomb et al. 1999; Alam et al. 2006). Dies führt einerseits zu schwer reproduzierbaren Temperaturverläufen, andererseits muss bei der Verwendung eines extracorporalen Verfahrens ein Antikoagulans eingesetzt werden, um das Blut im verwendeten Schlauchsystem ungerinnbar zu machen. Damit wäre eine Untersuchung der Blutgerinnung ausgeschlossen.

Um die aktuelle Gerinnungssituation im Versuchstier möglichst exakt abbilden zu können, wurde ein besonderes Augenmerk auf die Untersuchung der Proben bei Körpertemperatur des Versuchstieres gelegt.

2. Material und Methoden

1.1 Verwendete Geräte und Materialien

2.1.1 Operationsmaterialien

- Atropin Atropinsulfat[®], B. Braun, Melsungen
- Azaperon Stresnil[®], Janssen, Neuss
- Buprenorphin Temgesic[®], Reckitt Benckiser, Großbritannien
- Cystofix-Katheter Freka Cyst Standard Punktionsfistel CH 10/8cm; Fresenius Kabi, Bad Homburg
- Duodenalsonde Levin, röntgendicht CH 16/ 125cm, B. Braun, Melsungen
- Endotrachealtubus Lo-Contour Magill 8,5, Mallinckrodt Medical, Athlone, Irland
- Heparin Heparin-Natrium, B. Braun, Melsungen
- Indocyaningrün ICG-Pulsion[®], Pulsion Medical Systems, München
- Hydroxyethylstärke 6% Vitafusal[®] 6%, Serumwerk, Bernburg
- Kaliumchlorid KCL-Lösung Fresenius[®], Fresenius Kabi, Bad Homburg
- Katheter zur Blutentnahme High flow angiographic catheter 7F/

- 100cm, Cordis Corp., Miami, USA
- Katheter zur Blutentnahme Zweilumen-ZVK, 4F/ 30cm, Arrow GmbH, Erding
- Katheterschleuse 5F Super-Arrow-Flex® Einführbesteck 5F/ 11cm, Arrow GmbH, Erding
- Katheterschleuse 7F Arrow-Flex® Percutaneous sheath Introducer Set 7F/ 10cm, Arrow GmbH, Erding
- Katheterschleuse 9F MAC®, zweilumiges Einführbesteck 9F/10cm, Arrow GmbH, Erding
- Katheterschleuse 10F Super-Arrow-Flex® Einführbesteck 10F/ 11cm, Arrow GmbH, Erding
- Ketamin Ketavet®, Pharmacia GmbH, Karlsruhe
- Kühlkatheter Alsius ICY® intravascular, 3-lumig, ZOLL-Circulation, Sunnyvale, USA
- Midazolam Midazolam-ratiopharm 5mg/1ml, Ratiopharm GmbH, Ulm
- Natriumchlorid-Lösung Isotone Kochsalz-Lösung 0,9% NaCl, Braun AG, Melsungen
- Noradrenalin Arterenol®, Sanovi-Aventis GmbH, Frankfurt/Main
- Pentobarbital-Natrium Narkoren®, Merial, Hallbergmoos
- Pancuronium Pancuronium duplex-Actavis, Actavis, Langenfeld
- PICCO®-Katheter Pulsioath® Thermodilutionskatheter,5F/ 20cm, Pulsion Medical Systems, München

- Propofol Propofol-Lipuro 2%, B. Braun, Melsungen
- Pulmonalkatheter Swan-Ganz-Katheter 7F/ 110cm, Edwards Lifescience, Irvine, California, USA
- Pulsion- Katheter Pulsioath® 4F Thermodilutionskatheter, Pulsion Medical Systems, München
- Ringerlösung Ringerlösung Fresenius, Fresenius Kabi, Bad Homburg
- Venenverweilkatheter 18G Vasofix® Braunüle, B. Braun, Melsungen
- Zentraler Venenkatheter 4F 2-Lumen-ZVK-Set, Arrow GmbH, Erdingen

2.1.2 Operationsgeräte

- Absaugpumpe Wisa Absaugpumpe W.Sauer GmbH&C KG, Wuppertal
- Beatmungsgerät Siemens Servo Ventilator 900
- BGA-Gerät ABL System 625, Radiometer, Copenhagen, Dänemark
- COLD-System Pulsion COLD Z-021®, Pulsion Medical Systems, München
- Flussmesser Transonic® Flowprobe, Größe 3, 4, 8 Transonic Systems Inc., Ithaca, USA
- Infusomat Infusomat segura, B. Braun, Melsungen
- Injektomat Perfusor segura P, B. Braun, Melsungen
- Umlaufkühler Julabo FC 600S

- Pulsoxymeter Datex Capnomac® Ultima ULT-S-3301
Datex Instrumentation Corp., Helsinki,
Finnland
- Überwachungseinheit 66S™-Monitor, Hewlett Packard, Palo
Alto, CA, USA

2.1.3 Laborgeräte

- Eismaschine Scotsman Ice Systems Flockeneisbereiter
AF80; Scotsman Ice Systems, Mailand,
Italien
- Gefrierschrank -80°C Herafreeze, M.u.T. GmbH Berlin, Berlin
- Partikelzählgerät Beckman Coulter Z2, Beckman Coulter
GmbH, Krefeld, Deutschland
- Pipette 1000µl Eppendorf Reference®, Eppendorf,
Hamburg
- Pipette 200µl Eppendorf Reference®, Eppendorf,
Hamburg
- Pipette 100µl Eppendorf Research®, Eppendorf,
Hamburg
- Pipette 10µl Eppendorf Research®, Eppendorf,
Hamburg
- Rotem-System® ROTEM® delta, Pentapharm GmbH,
München
- Zentrifuge ROTINA 380R; Andreas Hettich GmbH &

Co.KG, Tuttlingen

- Zentrifuge für Reaktionsgefäße Eppendorf Centrifuge 5415C, Eppendorf, Hamburg

2.1.4 Chemikalien, Reagenzien

- Coulter Isoton II diluent Beckman Coulter GmbH, Krefeld, Deutschland
- Sauerstoff MTI Industriegase, Ulm

2.1.5 Käuflich erworbene Analysekits

- ap-TEM® Pentapharm GmbH, München
- fib-TEM® Pentapharm GmbH, München
- hep-TEM® Pentapharm GmbH, München
- in-TEM® Pentapharm GmbH, München
- r ex-TEM® Pentapharm GmbH, München
- star-TEM® Pentapharm GmbH, München

2.1.6 Sonstige Verbrauchsmaterialien

- Adapter für Monovetten Sarstedt, Nümbrecht
- Citrat-Monovette S-Monovette® Citrat, Sarstedt, Nümbrecht
- EDTA-Monovette S-Monovette® EDTA, Sarstedt, Nümbrecht
- Perfusorspritzen 50ml Original-Perfusor® Spritzen OPS 50, B. Braun, Melsungen
- Pipettenspitzen VWR, VWR International GmbH, Darmstadt
- Probengefäß für Coulter Counter Sarstedt, Nümbrecht
- Reaktionsgefäß 2,0ml Safe-Lock Reaktionsgefäß, 2,0ml, Eppendorf, Hamburg
- Reaktionsgefäß 1,5ml Safe-Lock Reaktionsgefäß, 1,5ml, Eppendorf, Hamburg
- Spritzen Injekt® Luer Solo, B. Braun, Melsungen
BD cc Syringe, BD, Heidelberg
- Transfusiosbeutel 500ml, CPD-Lösung 70ml, Macopharma
Blutbeutelssysteme, Maco Pharma, Langen

2.1.7 Versuchstiere

Deutsche Landschweine beiden Geschlechts (11 weiblich, 9 männlich), Alter: ca. 16 Wochen, mittleres Gewicht: 52kg

Tab. 2: Geschlechts- und Gewichtverteilung der Versuchstiere

kg = Kilogramm, w = weiblich, m = männlich, °C = Grad Celsius

Tier-Nummer	Geschlecht	Gewicht	Versuchs-Temperatur
454	w	45kg	32°C
455	m	43kg	32°C
456	m	44kg	38°C
457	m	50kg	38°C
458	m	54kg	32°C
462	w	52kg	38°C
463	w	47kg	35°C
464	w	44kg	35°C
465	w	49kg	35°C
466	m	61kg	32°C
467	w	64kg	35°C
468	m	42kg	35°C
469	m	38kg	32°C
470	w	60kg	38°C
471	w	51kg	38°C
472	w	56kg	35°C
473	w	58kg	35°C
474	m	60kg	32°C
475	m	62kg	32°C
476	w	63kg	38°C

2.1.8 Software

- Microsoft Office Excel 2010 Microsoft, Redmond, Washington, USA
- Microsoft Office Word 2010 Microsoft, Redmond, Washington, USA
- Sigma Plot 8.0 Systat Software Inc., Richmond, California, USA
- Sigma Stat 3.0 Systat Software Inc., Richmond, California, USA

2.2 Der Versuchsablauf am Großtiermodell

2.2.1 Versuchsaufbau

Alle folgenden Tierversuche wurden vom Regierungspräsidium in Tübingen, Baden-Württemberg (Genehmigungsnummer 886), sowie von Tierschutzbeauftragten der Universität Ulm genehmigt.

Das Schwein als Versuchstier wurde ausgewählt, da das Schwein anatomisch, metabolisch, sowie physiologisch und pathophysiologisch von den in Frage kommenden Spezies die größte Homologie mit dem Menschen besitzt (Velik-Salchner et al. 2006; Dodds 1982). Zudem ist nur am Großtiermodell eine wiederholte Blutentnahme zur Untersuchung der Organfunktionen und der Gerinnungsanalyse möglich.

Die Tiere lebten vor Versuchsbeginn ca. ein bis acht Wochen im Tierforschungszentrum der Universität Ulm.

Die Tiere wurden per Los in drei Gruppen eingeteilt. Je nach Gruppenzugehörigkeit wurden sie nach Einlage des Kühlkatheters auf 32°C bzw. 35°C abgekühlt oder bei 38°C gehalten.

2.2.2 Anästhesie und Medikation während der Operation

Zur Versuchsvorbereitung erfolgte ein Futterentzug über 18 Stunden; Wasser stand in dieser Zeit uneingeschränkt zur Verfügung. Eine Stunde vor Narkosebeginn erhielten die Tiere im Tierforschungszentrum eine Prämedikation. Es wurde 5 mg/kg KG Azaperon (Stresnil[®], Janssen, Neuss) intramuskulär in die Glutealregion der Tiere verabreicht. Anschließend wurden die Tiere in eine Transportkiste verladen und schlafend in den Tier-OP der Sektion „Anästhesiologische Pathophysiologie und Verfahrensentwicklung“ der Parkstrasse 11, 89073 Ulm transportiert.

Vor Umlagerung auf den Operationstisch erfolgte die Anlage einer intravenösen 18G Venenverweilkanüle (Vasofix[®] Braunüle, B. Braun, Melsungen) in die Ohrvene. Die Narkose wurde mit 1,5 bis 2 mg/kg KG Ketamin (Ketavet[®], Pharmacia GmbH, Karlsruhe) und 2 mg/kg KG Propofol (Propofol-Lipuro 2%, B. Braun, Melsungen) eingeleitet. Die Sauerstoffsättigung wurde mittels eines Pulsoxymeters (Datex Capnomac[®] Ultima ULT-S-3301 Datex Instrumentation Corp., Helsinki, Finnland) überwacht, dessen Fingerclip am Schwanz der Tiere angebracht wurde.

Die Versuchstiere wurden auf dem Rücken gelagert. Nach orotrachealer Intubation (Lo-Contour Magill 8,5, Mallinckrodt Medical, Athlone, Irland) wurde das Tier mit 8 mg Pancuronium (Pancuronium duplex-Actavis, Actavis, Langenfeld) relaxiert, es erhielt 1,5 mg Buprenorphin (Temgesic[®], Reckitt Benckiser, Großbritannien) und wurde kontrolliert beatmet. Zur Entlastung des Magens wurde eine Magensonde (Levin CH 16/ 125cm, B. Braun, Melsungen) eingelegt. Die Beatmung wurde durch eine kontinuierliche endexpiratorische CO₂-Messung überwacht.

Es wurde kontinuierlich ein EKG abgeleitet und die Körpertemperatur rektal gemessen.

Zur Narkoseaufrechterhaltung wurden 4,5 mg/kg KG/h Pentobarbital (Narkoren[®], Merial, Hallbergmoos) und intermittierend Buprenorphin (Temgesic[®], Reckitt Benckiser, Großbritannien) intravenös verabreicht. Die perioperative Relaxation wurde mit 0,1 mg/kg KG/h Pancuronium (Pancuronium duplex-Actavis, Actavis, Langenfeld) ebenfalls intravenös, erreicht. Die Relaxation wurde benötigt, da durch den hämorrhagischen Schock und die Retransfusion mit dem Auftreten eines akuten Lungenversagens zu rechnen war. In diesem Fall gewährleistet die Relaxation eine maximale Thoraxwandcompliance und Veränderungen der Beatmungsdrucke sind ausschließlich durch Effekte an der Lunge selbst zu erklären.

Während der operativen Instrumentierungsphase, sowie der postoperativen Ruhephase betrug das Tidalvolumen 8 ml/kg KG, die inspiratorische Sauerstoffkonzentration (FiO₂) 0,21, der positive endexpiratorische Druck (PEEP) 10 cm H₂O und das Verhältnis von Inspiration zu Expiration (I/E-Verhältnis) 1:1,5. Die Atemfrequenz wurde an die arteriellen pCO₂ -Wert angepasst. Der Zielbereich wurde zwischen 35 und 45 mmHg gewählt.

Während der Schockphase wurden die Beatmungsparameter modifiziert: FiO₂ 0,21, I/E-Verhältnis 1:2, PEEP 0 cm H₂O, Tidalvolumen 8 ml/kg KG.

In der Retransfusions-/ Beobachtungsphase wurde wie in der OP-Phase beatmet. Bei einem Horovitz-Index <300 erfolgte jedoch eine Anpassung des I/E-Verhältnisses auf 1:1 und des PEEP auf 12 cm H₂O. Bei einem Horovitz-Index <200 wurde ein PEEP von 15 cm H₂O gewählt, die FiO₂ wurde so angepasst, dass der PaO₂ >100 mmHg war und die Atemfrequenz nach arteriellem pCO₂ mit einem Zielbereich von 35 bis 45mmHg gewählt. Hierdurch sollte der zu erwartenden Verschlechterung der Lungenmechanik durch den hämorrhagischen Schock und die Reperfusion Rechnung getragen werden.

Je nach Versuchsgruppe wurde die Körperkernemperatur konstant bei 37,5 bis 38,5°C gehalten, bzw. auf 35°C oder 32°C gesenkt. Die Senkung bzw. Erhöhung der Körpertemperatur wurde mittels Kühlkatheter (Alsius ICY® intravascular, 3-lumig, ZOLL-Circulation, Sunnyvale, USA) in der V. jugularis interna links mit angeschlossenem Umlaufkühler (Julabo FC 600S) durchgeführt.

Alle Versuchstiere erhielten Ringerlösung (Ringerlösung Fresenius, Fresenius Kabi, Bad Homburg) in einer Dosierung von 10 ml/kg KG/h während der chirurgischen Instrumentierung, in der Ruhephase, sowie in der Retransfusions-/ Beobachtungsphase. Um die Auswirkungen eines nicht therapierten hypovolämischen Schocks zu simulieren wurde den Tieren während der Schockphase 10 ml/h Ringerlösung verabreicht.

Zusätzlich wurde den Tieren während der chirurgischen Instrumentierung HES 6% (Vitafusal® 6%, Serumwerk, Bernburg) verabreicht, um Blutdruck und -Volumen konstant zu halten. In der Retransfusions-/ Beobachtungsphase erhielten die Tiere 10ml/kg KG/h HES 6% (Vitafusal® 6%, Serumwerk, Bernburg), falls der pulmonalarterielle Verschlussdruck (PAOP) >18mmHg: Reduktion der HES- und Ringer-Infusionen auf 5ml/kg KG/h.

2.2.3 Chirurgische Präparation

Vor der chirurgischen Präparation wurde das Versuchstier gesäubert, rasiert, desinfiziert und steril abgedeckt.

Es folgte die Freilegung und Kanülierung der linken A. femoralis mit einer 10F-Katheterschleuse, in die eine 5F Katheterschleuse eingelegt wurde. In dieses System wurde ein 5F-PICCO®-Katheter (Pulsiocath® Thermodilutionskatheter, 5F/20cm, Pulsion Medical Systems, München, Pulsion Medical Systems, München) zur kontinuierlichen Aufzeichnung des Herz-Zeit-Volumens eingelegt.

Über die V. femoralis wurde über eine 7F Katheterschleuse (Arrow-Flex® Percutaneous sheath Introducer Set 7F/ 10cm, Arrow GmbH, Erding) ein Katheter (High flow angiographic catheter 7F/100cm, Cordis Corp., Miami, USA) in die V. renalis zur Entnahme von Blutproben eingebracht.

Dann erfolgte die Präparation der V. submandibularis , sowie der rechten und linken V. jugularis interna mit Einlage einer zweilumigen Katheterschleuse (MAC®, zweilumiges Einführbesteck 9F/10cm, Arrow GmbH, Erding), des Kühlkatheters (Alsius ICY® intravascular, 3-lumig, ZOLL-Circulation, Sunnyvale, USA), sowie des Messkatheters in eine Lebervene (High flow angiographic catheter 7F/100cm, Cordis Corp., Miami, USA) unter sonographischer Kontrolle. Des Weiteren wurde ein Swan-Ganz-Katheter (Swan-Ganz-Katheter 7F/ 110cm, Edwards Lifescience, Irvine, California, USA) über die Halsvene in die A. pulmonalis eingeschwenkt.

Punktion der A. carotis zur Einlage einer 5F Katheterschleuse. Hierüber wurde ein fiberoptischer Katheter (Pulsioath® 4F Thermodilutionskatheter, Pulsion Medical Systems, München) zur Messung der Indocyanin-Grün-Konzentration im Blut, sowie zur invasiven Blutdruckmessung während der gesamten Versuchsdauer, eingeführt.

Nach medianer Laparotomie wurden die A. hepatica und die V. porta präpariert und Flussmesssonden (Flowprobe, Größe 3 und 8 Transonic Systems Inc., Ithaca, USA) an diese Gefäße angelegt. Des Weiteren wurde die V. porta punktiert und ein Katheter zur Blutentnahme (Zweilumen-ZVK, 4F/ 30cm, Arrow GmbH, Erding) eingelegt. Im Anschluss wurde das Operationsfeld durch eine transversale Laparotomie erweitert. Die rechte Niere, sowie deren Gefäße wurden dargestellt. An die A. renalis dexter wurde ebenfalls eine Flussmesssonde (Flowprobe, Größe 4 Transonic Systems Inc., Ithaca, USA) angebracht. Nach Anlage aller benötigter Katheter und Messsonden erfolgte der schichtweise Wundverschluss.

In die Blase wurde ein suprapubischer Harnableitungskatheter (Freka Cyst Standard Punktionsfistel CH 10/8cm; Fresenius Kabi, Bad Homburg) eingelegt und festgenäht.

Die chirurgische Präparation dauerte bis etwa 12:00 Uhr am ersten Versuchstag.

2.2.4 Die Schock- und Retransfusionsphase

Nach Beendigung der vierstündigen Ruhephase wurden die Ausgangsdaten erhoben und die Blutproben (MZP 1) entnommen. Anschließend erfolgte über 30 min. die Entnahme des Blutes, welches in CPD-Transfusionsbeuteln gefüllt und bis zur Retransfusion bei 4°C im Kühlschrank gelagert wurde. Die Menge des entnommenen Blutes betrug 40% des anhand des Körpergewichts geschätzten Blutvolumens, wobei eine starke Hypotension mit einem arteriellen Mitteldruck (MAP) von 30mmHg angestrebt wurde. Dabei wurde ein Gesamtblutvolumen von 8% des Körpergewichts angenommen und mit einer Dichte von 1,1g/ml gerechnet. Der angestrebte MAP von 30mmHg wurde durch vorsichtige Titration des zu entnehmenden Blutes bzw. durch fraktionierte Retransfusion kleiner Blutvolumina gehalten.

Vier Stunden nach der Induktion des hämorrhagischen Schocks erfolgte die zweite Datenerhebung (MZP 2). Anschließend wurde das Blut über die Dauer von etwa einer Stunde retransfundiert. Zeitgleich wurde Hydroxyethylstärke 6% (Vitafusal® 6%, Serumwerk, Bernburg) in einer Dosierung von 10ml/Kg KG/h infundiert. Bei einem Pulmonalarterienverschlussdruck (PAOP) > 18mmHg wurde die Dosierung auf 5ml/kg KG/h reduziert. Zusätzlich erhielten alle Versuchstiere 10ml/kg KG/h Ringerlösung (Ringerlösung Fresenius, Fresenius Kabi, Bad Homburg). Bei einem PAOP > 18mmHg wurde die Dosierung ebenfalls auf 5ml/kg KG/h reduziert. Genügte diese Volumensubstitution nicht, um den MAP auf demselben Niveau wie vor der Schockphase zu halten, wurde Noradrenalin (Arterenol®, Sanovi-Aventis GmbH, Frankfurt/Main) i.v. verabreicht. Die Dosis wurde dem Bedarf entsprechend gewählt, wobei die Herzfrequenz nicht über 160/min. steigen sollte.

Im anschließenden Beobachtungszeitraum wurde 12 Stunden nach Beginn der Retransfusion die dritte Datenerhebung (MZP 3) durchgeführt.

Am Ende des Versuchs, 22 Stunden nach Beginn der Retransfusion, erfolgt die 4. Datenerhebung (MZP 4).

Im Anschluss daran wurde das Versuchstier in tiefer Narkose durch einen Pentobarbital-Bolus (Narkoren®, Merial, Hallbergmoos) und die anschließende i.v.-

Gabe von 40 mval KCl (KCL-Lösung Fresenius®, Fresenius Kabi, Bad Homburg) getötet.

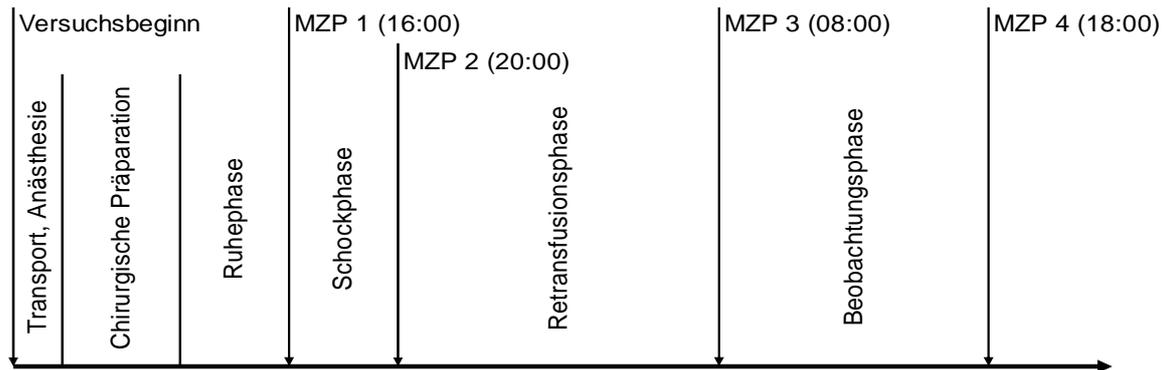


Abb. 2: Zeitlicher Ablauf des Versuches
MZP = Messzeitpunkt

2.3 Die Kühlung des Versuchstieres

Über eine Halsvene des Versuchstieres wurde der Kühlkatheter (Abb. 3) zur endovaskulären Kühlung eingelegt. Dieser Kühlkatheter besitzt drei miteinander verbundene Kühlballons.



Abb. 3: Kühlkatheter Icy®

(Quelle: Fa. Zoll Medical Deutschland GmbH)

Durch Füllung der drei Ballone mit kaltem Wasser kann das vorbeifließende Blut gekühlt werden, ohne mit dem Wasser in Berührung zu kommen.

Die beiden Spüllumina bilden mit dem Kühlgerät einen geschlossenen Kreislauf. Über einen Umlaufkühler wird Wasser gekühlt und zu den Ballons befördert. Die Temperatur des am Katheter vorbeifließenden Blutes nimmt ab, ohne dass es mit dem Wasser in Berührung kommt, bzw. ohne dass größere Mengen gekühlter Flüssigkeit infundiert werden müssen. Über ein zusätzliches Lumen des Kühlkatheters können gleichzeitig Medikamente (Katecholamine) infundiert werden.

In das Badgefäß des Umlaufkühlers wird die Kühlflüssigkeit eingefüllt. Dieser Flüssigkeit wird entsprechend der gewünschten Solltemperatur Wärme entzogen bzw. zugeführt. Die Umwälzpumpe transportiert die temperierte Flüssigkeit zum Kühlkatheter. Dabei wird kontinuierlich die Vor- und Rücklauftemperatur, sowie die Temperatur des Wasserbades gemessen. Durch diese Messung kann eine nahezu konstante Temperatur im Versuchstier erreicht werden.

Der verwendete Katheter in Kombination mit Kühlsystem ist effizient bei der Induktion von milder Hypothermie und gut tolerabel (Holzer et al. 2006; Pichon et al. 2007).

2.4 Das Thrombelastogramm

2.4.1 ROTEM® delta

ROTEM® steht für Rotations-Thrombelastometrie.

Das ROTEM® delta besitzt vier Messkanäle, in denen parallel und unabhängig gemessen werden kann. Die Messdaten werden kontinuierlich als Diagramm und in Zahlenwerten dargestellt und automatisch gespeichert.

Die elektronische Pipette erlaubt auch für ungeübte Personen eine präzise Durchführung der Messungen. Auf Knopfdruck wird die für den jeweiligen Messvorgang benötigte Probenmenge automatisch aufgezogen, so dass z.B. Einstellungsfehler durch den Benutzer weitestgehend vermieden werden können.

Die Messtemperatur des ROTEM®-Systems kann auf Temperaturen zwischen 30°C und 40°C eingestellt werden.

Das Gerät wird dauerhaft auf der voreingestellten Betriebstemperatur gehalten (in diesem Fall 32°C, 35°C oder 38°C). So kann garantiert werden, dass die Blutproben während des Messvorganges mit der entsprechenden Temperatur untersucht werden.

Für jede Probe werden eine Messküvette und ein Messstempel benötigt. Die Messküvette wird in dem beheizten Messküvettenhalter, der Messstempel an dem Pin des Gerätes befestigt. Küvette und Stempel bestehen aus Kunststoff.

2.4.2 Messprinzip, Mischverfahren

Die Messungen wurden mit Citratblut (3,13%, Sarstedt-Monovetten, Mischungsverhältnis 1:10) durchgeführt. Die arterielle Blutentnahme erfolgte unmittelbar vor den Messungen. Der Inhalt der Blutmonovetten wurde vor Messbeginn gut gemischt und die Monovette in die Probevorwärmstation gestellt. So konnte die Temperatur der Probe gehalten werden.

Es wurde ein standardisiertes Mischverfahren von Blutprobe und Reagenzien durchgeführt, wie es vom Gerät vorgegeben wurde:

- Aufziehen der Reagenzien entweder in eine Pipettenspitze mit Luftpolster, oder Aufziehen der ersten Reagenz, Entleerung in die Küvette, Spitze abwerfen und Wiederholung des Vorgangs mit einer neuen Spitze; Verfahren je nach Testart vom Gerät vorgegeben.

- Die Blutprobe wurde mit neuer Pipettenspitze aufgenommen und in die Messküvette entleert.
- Der gesamte Inhalt der Küvette wurde nun mit derselben Spitze nochmals aufgezogen und entleert. Dabei vermischten sich die Reagenzien und die Probe.

Nach dem Mischen wurde der Küvettenhalter vorsichtig, aber zügig am entsprechenden Messkanal befestigt. Dabei tauchte der Pin mit dem Messstempel in die Probe ein. Während des Messvorgangs rotierte der Stempel um jeweils $4,75^\circ$ in beide Richtungen der Rotationsachse. Durch Reflektion des Lichtstrahls einer Lichtquelle wurde die Rotationsbewegung des Pins gemessen.

Bei fehlender Gerinnung ist die Bewegung des Pins nicht eingeschränkt, im Diagramm wird dies als Linie dargestellt. Mit beginnender Blutgerinnung haftet das Gerinnsel an den Wänden der Messküvette und des Pins und schränkt so die Rotationsbewegung zunehmend ein. Dies wird im Messdiagramm als Zunahme der Amplitude dargestellt.

Bei vollständig aufgehobener Rotation beträgt die Diagramm-Amplitude 100mm.

2.4.3 Messparameter

Clotting-Time (CT) [s]: Zeit vom Start der Messung bis zum Beginn der Gerinnselbildung. Technisch wird dabei die Zeit bis zum Auftreten einer Amplitude von 2mm gemessen. Im Diagramm (Abb. 4) grün dargestellt. Die CT wird hauptsächlich durch die Aktivität der Gerinnungsfaktoren und durch blutgerinnungshemmende Medikamente beeinflusst.

Clotting-Formation-Time (CFT) [s]: Zeit vom Auftreten einer Amplitude von 2mm bis 20mm. Im Diagramm (Abb. 4) pink dargestellt. Die CFT wird vor allem durch die Thrombozyten, Faktor XIII, Thrombingenerierung und die Fibrinpolymerisation beeinflusst.

Maximum-Clot-Firmness (MCF) [mm]: Größte Festigkeit, die das Gerinnsel erreicht hat. Der Maximalwert liegt bei 100mm, was einer aufgehobenen Pin-Rotation entspricht. Die MCF wird primär durch Thrombozyten, Fibrinogen und Faktor XIII beeinflusst.

A5 bis A30 [mm]: Gerinnselfestigkeit zum Zeitpunkt 5, 10, 15, 20, 25, 30min. nach Beginn der Gerinnselfestigkeit, vor allem durch Thrombozyten, Fibrinogen und Faktor XIII beeinflusst. Dabei zeigt sich eine gute Korrelation zwischen A10 und MCF (Dirkmann et al. 2013).

α -Winkel [°]: Tangente an das Gerinnungsdiagramm durch den 2mm Punkt. Der α -Winkel beschreibt die Kinetik der Gerinnselfestigkeit und ist von der CFT abgeleitet. Beeinflusst durch die Thrombozyten, Faktor XIII, Thrombingenerierung und die Fibrinpolymerisation.

Lysis-Index (LI) [%]: Ausmaß der Fibrinolyse zum Zeitpunkt x nach CT. Berechnung als Verhältnis der Amplitude zur MCF. Primär durch die Fibrinolyse-Aktivität beeinflusst.

Maximum-Lysis (ML) [%]: Maximale Fibrinolyse im Verhältnis zur MCF. Reduktion der Amplitude nach der maximalen Gerinnselfestigkeit in Relation zur maximalen Gerinnselfestigkeit.

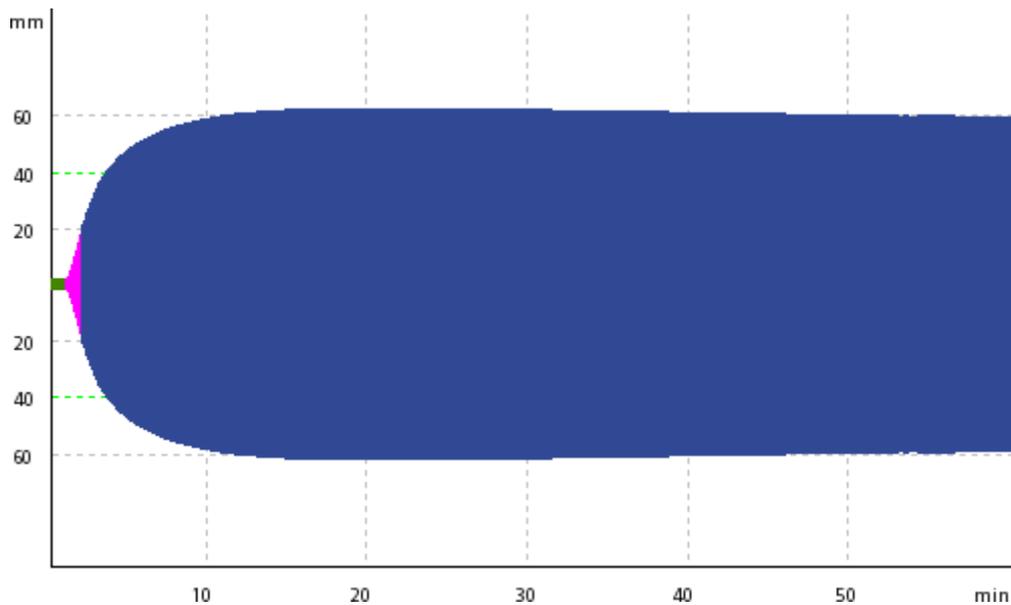


Abb. 4: Beispiel eines ROTEM-Messdiagramms.

Zunehmende Gerinnselfestigkeit gegenüber der Zeit aufgetragen. Eine fehlende Blutgerinnung ohne Einschränkung der Pinbeweglichkeit entspricht einer Amplitude von 0mm, bei vollständig aufgehobener Beweglichkeit des Pins wird eine Amplitude von 100mm registriert.

Min. = Minuten, mm = Millimeter,

in grün dargestellt die Clotting Time (CT), in pink dargestellt die Clotting Formation Time (CFT), in blau dargestellt: Amplitude größer als 20 mm.

2.4.4 Reagenzien

Alle Reagenzien müssen vor der Benutzung gut gemischt werden.

Etwa 20min. vor Testbeginn wurden die Reagenzien aus dem Kühlschrank genommen, auf Haltbarkeit überprüft, etwas erwärmt und ggf. gelöst.

star-TEM®: enthält Calcium-Chlorid (0,2mol/l); gebrauchsfertiges Reagenz zur Recalcifizierung von Citratblut. Bei alleiniger Zugabe von star-Tem® wird die Gerinnselformung ausschließlich über Kontaktaktivierung gestartet. Zusätzliche

Zugabe von Gewebsthromboplastin (EXTEM) und partielles Thromboplastin-Phospholipid (INTEM).

in-TEM®: enthält partielles Thromboplastin-Phospholipid aus Kaninchenhirn; gebrauchsfertiges Reagenz zur Untersuchung des intrinsischen Gerinnungssystems in Citratblut.

r ex-TEM®: enthält rekombinanten Tissue-Factor (Gewebsthromboplastin), Phospholipide, Heparin Inhibitor; gebrauchsfertiges Reagenz zur Untersuchung des extrinsischen Gerinnungssystems in Citratblut.

Durch den enthaltenen Heparin Inhibitor ist das Reagenz weitgehend Heparin-unempfindlich.

hep-TEM®: enthält Heparinase aus Flavobakterien und Calciumhaltiges Verdünnungsmittel; hep-TEM wird als lyophilisiertes (gefriergetrocknetes) Reagenz geliefert und muss vor Gebrauch mit dem mitgelieferten Lösungsmittel gelöst werden. Das Reagenz dient zur Detektion von Gerinnungsstörungen bei hohen Heparinspiegeln. Verwendung in Kombination mit in-TEM®.

ap-TEM®: enthält Aprotinin und Calcium-Chlorid (0,2mol/l); gebrauchsfertiges Reagenz zur Detektion einer Hyperfibrinolyse nach Hemmung der Fibrinolyse. Verwendung immer in Kombination mit r ex-TEM®.

fib-TEM®: enthält Cytochalasin D, DMSO und Calcium-Chlorid (0.2mol/l); gebrauchsfertiges Reagenz zur Beurteilung des Fibrinogengehalts und der Fibrinpolymerisation nach Hemmung der Thrombozytenfunktion. Verwendung immer in Kombination mit r ex-TEM®.

2.4.5 Verwendete Tests

INTEM: Es werden 300µl Citratblut, 20µl star-TEM®- und 20µl in-TEM®-Reagenz in die Messküvette pipettiert. Gemessen wird die intrinsische Aktivierung der

Gerinnung. Mit Hilfe des Tests kann eine Aussage über Faktorenmängel, Gerinnungsinhibitoren (z.B. Heparin), Hyperfibrinolyse, Thrombozytenbeitrag zur Gerinnungsfestigkeit und Fibrinpolymerisation getroffen werden. Milde Faktorenmängel, Defekte der Primärhämostase, Thrombozytenfunktionsstörungen und bestimmte Thrombozyteninhibitoren (z.B. ASS) können jedoch nur eingeschränkt detektiert werden.

Ein Heparineffekt äußert sich vor allem in einer verlängerten CT

EXTEM: Es werden 300µl Citratblut, 20µl star-TEM[®]- und 20µl r ex-TEM[®]-Reagenz in eine Messküvette pipettiert. Gemessen wird die extrinsische Aktivierung der Gerinnung. Der Test zeigt sich weitgehend unempfindlich auf Heparin und detektiert Faktorenmängel, Fibrinpolymerisation, Fibrinogenkonzentration, Hyperfibrinolyse und den Thrombozytenbeitrag zur Gerinnungsfestigkeit. Die Einschränkungen des Tests sind dieselben wie beim INTEM. Außerdem kann der Test bei erhöhtem INR bis 4 noch normal sein.

HEPTEM: Es werden 300µl Citratblut, 20µl hep[®]-TEM- und 20µl in-TEM[®]-Reagenz in eine Messküvette pipettiert; gemessen wird die intrinsische Aktivierung der Gerinnung unter Zugabe von Heparinase I, einem heparinspaltenden Enzym. So kann im heparinisierten Versuchstier ein Heparineffekt gemessen werden. Im Ergebnisteil werden die Daten des HEPTEM verwendet, um einen Heparineffekt auszuschließen. Heparinlösung wurde dazu verwendet, die 3-Wege-Hähne und Katheter zu spülen um ein Verstopfen zu verhindern.

APTEM: Es werden 300µl Citratblut, 20µl r ex-TEM[®]- und 20µl ap-TEM[®]-Reagenz in eine Messküvette pipettiert; gemessen wird die extrinsische Aktivierung der Gerinnung unter Zugabe eines Fibrinolyseinhibitors (Aprotinin). Wenn die Hyperfibrinolyse des EXTEM im APTEM nicht auftritt, dann kann diese bestätigt werden. Als frühes Zeichen einer Hyperfibrinolyse kann eine Normalisierung der CT, CFT und des α -Winkels im APTEM gegenüber dem EXTEM gesehen werden.

FIBTEM: Es werden 300µl Citratblut, 20µl r ex-TEM[®]- und 20µl fib-TEM[®]-Reagenz in eine Messküvette pipettiert. Fib-TEM[®] enthält einen Thrombozyteninhibitor (Cytochalasin D). Der Test lässt Aussagen über Fibrinpolymerisation, die Fibrinogenkonzentration, Faktor XIII-Mangel und Hyperfibrinolyse zu. Durch das

Cytochalasin D wird die Thrombozytenfunktion gehemmt und die Gerinnselfestigkeit korreliert mit der Fibrinogenkonzentration. Eine gestörte Fibrinpolymerisation kann allerdings auch bei relativ hohen Fibrinogenkonzentrationen zu pathologischen Testergebnissen führen. Der Test kann durch hohe Heparinspiegel beeinflusst werden.

2.5 Thrombin-Antithrombin-Komplex (TAT)

Thrombin-Antithrombin-Komplexe sind ein Reaktionsprodukt aus Thrombin und Antithrombin, wobei beide Reaktionspartner ihre Aktivität verlieren. Die Menge der TAT kann folglich als Maß für die Thrombin-Aktivierung herangezogen werden und ist beispielsweise bei disseminierter intravasaler Gerinnung (DIC), Thrombose- und Embolieereignissen oder bei Sepsis erhöht (Zhang et al. 2008).

Die Messungen wurden mit Citratblut (3,13%, Sarstedt-Monovetten, Mischungsverhältnis 1:10) durchgeführt. Unmittelbar nach der arteriellen Blutentnahme wurden die Proben auf Eis gekühlt und zügig bei 4°C über 10min. bei 3.000U/min. zentrifugiert.

Je 1,5ml des Citratplasmas wurden anschließend in zwei Reaktionsgefäße pipettiert und sofort bei -80°C tiefgefroren.

Die Bestimmung der Thrombin-Antithrombin- Komplexe erfolgte mittels Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) (Abb. 5). Verdünnte Plasmaproben wurden mit monoklonalen Antikörpern gegen Thrombin inkubiert. Diese Antikörper sind fest an der Versuchsplatte fixiert. Dabei binden die TAT-Komplexe an die Antikörper. Nach der Inkubationszeit wurde die Platte gewaschen und alle ungebundenen Bestandteile entfernt. Im dritten Schritt wurden enzymmarkierte Antikörper gegen Antithrombin zugegeben, die jetzt an die vorhandenen Komplexe binden. Die Platte wurde nochmals gewaschen. Jetzt wurde ein zum Enzym passendes Substrat zugesetzt, welches zu einem Reaktionsprodukt mit Farbumschlag umgesetzt wird.

Je mehr TAT-Komplexe gebunden wurden, desto intensiver der Farbumschlag. Die Intensität des Farbumschlags kann mit der Photometrie gemessen und mithilfe des Lambert-Beerschen Gesetzes quantifiziert werden.

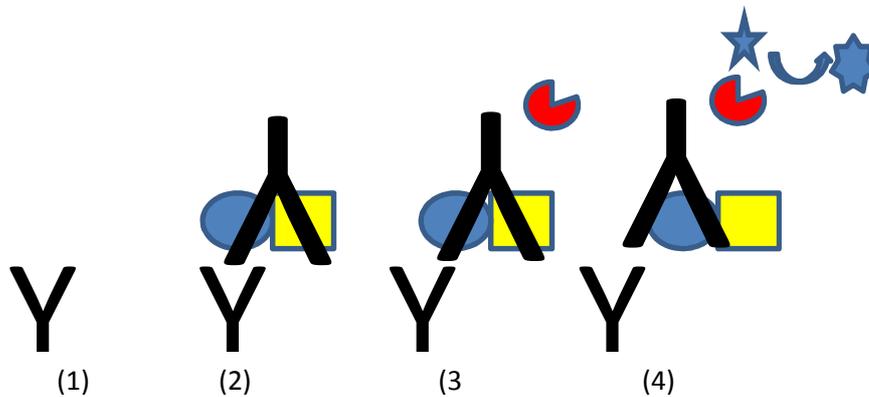


Abb. 5: ELISA- Bestimmung, schematisch

Y = monoklonale Antikörper gegen Thrombin, = TAT-Komplex, = Enzym, = Farbumschlag

- (1): monoklonale Antikörper gegen Thrombin fest an Versuchsplatte gebunden.
- (2): Zugabe der Probe und Inkubation
- (3): Bindung der enzymmarkierten Antikörper
- (4): Umsetzung des Substrats zu einem reaktionsprodukt mit Farbumschlag. Je mehr TAT-Komplexe gebunden werden, desto intensiver der Farbumschlag.

2.6 Thrombozytenzahl

2.6.1 Messmethode, „Coulter-Prinzip“

Die zu zählenden Partikel wurden in einer leitfähigen Lösung suspendiert. Im Messgerät wurde durch zwei Elektroden, die zu beiden Seiten der Kapillare angebracht sind, ein elektrisches Feld erzeugt. Bei der Messung wurden die im

Suspensionsmittel befindlichen Partikel mit einem definierten Probenvolumen durch eine mikroskopisch kleine Kapillaröffnung (in diesem Fall 50µm) gesaugt. Beim Durchtritt durch diese Öffnung wirkte der mikroskopische Partikel als Isolator und erzeugte sofort eine Impedanzänderung des anliegenden elektrischen Feldes.

So erzeugte jeder durch tretende Partikel einen elektrischen Impuls, der zur Zählung registriert wurde.

Je nach Größe der Impedanzänderung ließen sich Rückschlüsse auf die Größe des Partikels ziehen. Je weniger der leitfähigen Flüssigkeit sich in der Kapillaröffnung befand, desto größer der Partikel und desto größer die Impedanzänderung.

Eine elektronische Auswahl der ausgelösten Impulse ließ so eine sehr selektive Zählung der gewünschten Partikel zu.

Gelegentlich gelangten mehrere Partikel gleichzeitig in der Kapillar-Öffnung (Koinzidenz), was sich messtechnisch als großer Impuls äußerte. Die Häufigkeit der Koinzidenz korrelierte jedoch mit der Partikelkonzentration und wurde vom Gerät nach dem Ende der Zählung automatisch korrigiert.

Je nach zu erwartender Partikelgröße erfolgte die Auswahl der zu verwendenden Kapillare. Der Durchmesser der Partikel musste zwischen 2 und 60% des Nenndurchmessers der Kapillaröffnung liegen.

Bei einer regulären Thrombozytengröße von 1,5 bis 3µm wurde mit einer Kapillare der Größe 50µm gemessen.

Mit einem korrekt eingestellten Gerät war bei Thrombozytzählungen eine Genauigkeit von $\pm 5\%$ des Referenzverfahrens zu erreichen.

2.6.2 Vorbereitung der Blutprobe

Die Messung wurde mit Kalium-EDTA-Blut (1,2-2mg EDTA/ml Blut, Sarstedt-Monovette) durchgeführt.

In ein Reaktionsgefäß wurden 480µl Coulter Isoton II diluent[®] plus 20µl des EDTA-Blutes pipettiert und anschließend mit der Pipette gut gemischt.

Coulter isoton II diluent[®] war eine filtrierte, phosphatgepufferte Elektrolytlösung, basierend auf 0,9%iger NaCl-Lösung. Diese war kompatibel mit Blutzellen.

Im nächsten Schritt erfolgte die Zentrifugation des Gemisches bei 1500U/min (4g) für 1min. Dabei senkten sich Erythrozyten und Leukozyten auf den Grund des Gefäßes ab, die Thrombozyten lagen im Überstand vor.

Im Probengefäß des verwendeten Messgerätes (Beckman Coulter Z2[®]) wurde daraufhin eine Verdünnung für den Messvorgang hergestellt: zu 19,9ml Coulter Isoton II diluent[®] wurden 0,1ml des Überstandes aus dem Reaktionsgefäß mit den zu messenden Thrombozyten gegeben und vorsichtig gemischt. Dies entsprach schließlich einer Verdünnung von 1:5000.

2.6.3 Messvorgang

Gemessen wurde die auf 1:5000 verdünnte Thrombozytenprobe.

Das Gerät zählte die Impedanzänderungen bei der Thrombozytenmessung über 10s.

Zwischen den Messungen unterschiedlicher Proben wurde die Kapillare mit Coulter Isoton II diluent[®] gespült um Probenrückstände zu entfernen und Fehlmessungen zu vermeiden.

Pro Probe wurde die Messung drei Mal durchgeführt und anschließend das arithmetische Mittel gebildet.

Das arithmetische Mittel musste dann durch 20 dividiert und mit 10^9 multipliziert werden.

2.7 Blutgasanalyse

Die Messung der Blutgase erfolgte mit dem ABL System 625 von Radiometer (Copenhagen, Dänemark).

2.8 Statistische Auswertung der Daten

Die Ergebnisse wurden mit der Software SigmaStat® 3.0 und SigmaPlot® 8.0 von Systat Software statistisch ausgewertet. Zunächst wurde getrennt nach Versuchsgruppen, Messzeitpunkten und Parameter Median und Quartilen berechnet. Aus diesen Daten wurden Boxplots erstellt. Ergebnisse mit signifikanten Unterschieden sind als solche gekennzeichnet.

Da bei kleinen Fallzahlen nicht von einer Normalverteilung ausgegangen werden kann, wurde dies zu Beginn der statistischen Tests mit dem Kolmogorow-Smirnov-Test überprüft. Der p-Wert wurde mit 0,05 angegeben.

Bei Nicht-Normalverteilung wurde unter Verwendung des Einweg-Varianzanalysetests (ANOVA) an Rängen nach Kruskal und Wallis überprüft, ob sich die Ergebnisse der drei unterschiedlichen Temperaturvarianten an den verschiedenen Messzeitpunkten, bzw. zwischen den einzelnen Gruppen, unterscheiden.

Konnte eine Normalverteilung festgestellt werden, so wurde diese Überprüfung mittels ANOVA durchgeführt.

Bei diesen Tests wurde ebenfalls ein p-Wert kleiner als 0,05 als signifikant befunden.

3. Ergebnisse

3.1 Allgemeine Anmerkungen

Für die Versuche wurden insgesamt 20 Schweine verwendet. In der Kontrollgruppe waren 6 Tiere, in der 35°C-, sowie der 32°C-Interventionsgruppe jeweils 7 Tiere. Die Schweine der Kontrollgruppe waren durchschnittlich 53kg schwer (44- 63kg, m:w=2:4), in der 35°C- Gruppe wogen die Tiere im Durchschnitt 51kg (44- 64kg, m:w=1:6) und in der 32°C- Gruppe hatten die Tiere durchschnittlich ein Gewicht von 52kg (38- 62kg, m:w=6:1).

Ein Tier der 35°C- Interventionsgruppe ist vorzeitig verstorben. Vereinzelt sind Bestimmungen von Messwerten fehlgeschlagen. Deshalb wurde nicht immer die volle Fallzahl ($n_{38^{\circ}\text{C}}=6$, $n_{35^{\circ}\text{C}}=7$, $n_{32^{\circ}\text{C}}=7$) erreicht.

3.2 Körperkerntemperatur, Hämodynamik und arterielle Blutgasanalyse

Tab. 3: Ergebnisse der Blutgasanalysen. Dargestellt sind jeweils der Median und die Quartilen der unterschiedlichen Versuchsgruppen.

38°C = Kontrollgruppe (n = 6), 35°C = 35°C-Interventionsgruppe (n = 7), 32°C = 32°C-Interventionsgruppe (n = 7), n = Anzahl der Versuchstiere, °C = Grad Celsius, paCO₂ = arterieller Kohlenstoffdioxidpartialdruck, paO₂ = arterieller Sauerstoffpartialdruck, FiO₂ = inspiratorische Sauerstoffkonzentration, BE = Base Excess, mmol = Millimol, l = Liter, mmHg = Millimeter Quecksilbersäule, art. = arteriell, MZP = Messzeitpunkt.

= p<0,05 versus MZP 1, § = p<0,05 versus 38°C-Kontrollgruppe zum gleichen MZP.

		MZP 1	MZP 2	MZP 3	MZP 4
Temperatur	32°C	31,9 (31,9; 32,2) §	32,2 (32,2; 32,4) §	32,1 (32,0; 32,4) §	36,8 (35,7; 37,4) #§
	35°C	34,9 (34,8; 35,0) §	35,1 (35,0; 35,2) §	35,1 (34,9; 35,2) §	38,0 (37,8; 38,2) #
	38°C	37,5 (36,8; 38,0)	37,7 (37,4; 38,1)	37,6 (37,4; 38,0)	37,9 (37,5; 38,2)
paCO ₂ in mmHg	32°C	35 (34; 35)	38 (37; 40) #	39 (38; 40) #	41 (38; 46) #
	35°C	35 (32; 36)	36 (34; 41)	37 (36; 40) #	39 (36; 44) #
	38°C	37 (35; 41)	40 (36; 47)	38 (36; 39)	39 (35; 41)
paO ₂ / FiO ₂	32°C	574 (558; 590) §	491 (413; 507) #	520 (493; 593) §	393 (357; 427) #
	35°C	531 (490; 538)	469 (417; 501)	533 (413; 573)	471 (430; 499) #§
	38°C	429 (393; 449)	405 (379; 431)	361 (329; 425)	272 (215; 379)
Laktat (art.) in mmol/l	32°C	1,4 (0,8; 2,5) §	4,0 (3,2; 5,2) #§	3,0 (0,7; 8,5)	1,2 (0,6; 5,4)
	35°C	0,7 (0,5; 0,8)	5,1 (4,6; 6,4) #§	0,5 (0,5; 3,4)	0,5 (0,5; 0,9)
	38°C	0,7 (0,5; 0,8)	9,1 (8,5; 9,2) #	0,7 (0,6; 0,8)	0,6 (0,4; 0,7)
BE (art.) in mmol/l	32°C	-2,7 (-3,1; -2)	-7,5 (-10,2; -4,4) #	-10,4 (-17,8; -2,7) #§	-8,3 (-11,8; -4,4) #§
	35°C	-1,0 (-1,9; 0,6)	-9,2 (-12,9; -6,8) #	-1,4 (-7,6; -0,2)	-1,4 (-4,6; 4,7)
	38°C	-0,8 (-1,5; 1,4)	-12,9 (-14,3; -11,6) #	-1,6 (-2,2; -1,2)	-2,7 (-4,7; -0,3)
pH	32°C	7,41 (7,39; 7,41)	7,29 (7,23; 7,35) #§	7,22 (7,11; 7,33) #§	7,28 (7,18; 7,32) #
	35°C	7,44 (7,42; 7,45)	7,25 (7,21; 7,32) #	7,33 (7,31; 7,4) #	7,35 (7,35; 7,43) #
	38°C	7,42 (7,42; 7,45)	7,13 (7,12; 7,2) #	7,37 (7,33; 7,4) #	7,36 (7,27; 7,41) #

In Tab. 3 sind Körperkerntemperatur, hämodynamische Parameter und metabolische Werte aus allen drei Versuchsgruppen aufgelistet.

Die geforderte Körperkerntemperatur wurde an allen Messzeitpunkten erreicht. Lediglich am Messzeitpunkt 4 der 32°C-Interventionsgruppe war dies nicht der Fall. Hier konnte nach Abstellen der Kühlung keine vollständige Wiedererwärmung bis zum Versuchsende erreicht werden. In der 35°C- Interventionsgruppe stellte dies kein Problem dar.

Passend zum Versuchsdesign zeigte sich ein signifikanter Unterschied der Messwerte an den Messzeitpunkten 1 bis 3 der 32°C- und der 35°C-Interventionsgruppe gegenüber der 38°C-Kontrollgruppe.

Passend zur Beendigung der Kühlung zum Versuchsende zeigte sich am Messzeitpunkt 4 der 32°C- und der 35°C-Interventionsgruppe ein signifikanter Unterschied gegenüber Messzeitpunkt 1.

Beim arteriellen CO₂-Partialdruck (paCO₂) kam es sowohl in der 32°C- als auch in der 35°C-Interventionsgruppe zu einem signifikanten Anstieg gegenüber Messzeitpunkt 1, innerhalb der Messzeitpunkte konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden. Insgesamt bewegen sich jedoch alle Messwerte innerhalb der Normwerte.

Der Horovitz-Index (paO₂/FiO₂) war in der 32°C-Interventionsgruppe an den Messzeitpunkten 1 und 3 jeweils signifikant besser gegenüber der Kontrollgruppe. In der 35°C-Interventionsgruppe zeigte sich dies an Messzeitpunkt 4.

In allen Versuchsgruppen zeigt sich eine Verminderung des Horovitz-Index am Messzeitpunkt 4 gegenüber Messzeitpunkt 1. Diese sinken jedoch nur in der Kontrollgruppe unter die Normwerte.

Die arteriellen Laktatwerte zeigten an Messzeitpunkt 2 in allen Versuchsgruppen einen signifikanten Anstieg gegenüber Messzeitpunkt 1, welcher im Verlauf des Versuches wieder verschwindet. Dieser Anstieg fällt in der 32°C-Interventionsgruppe am wenigsten ausgeprägt, in der 38°C-Kontrollgruppe am

deutlichsten aus. In der 32°C-Interventionsgruppe blieb die Laktatazidose jedoch im gegensatz zu den anderen Gruppen bis zum Messzeitpunkt 4 bestehen. Am Messzeitpunkt 2 zeigt sich zudem ein signifikanter Unterschied der Interventionsgruppen gegenüber der Kontrollgruppe.

Beim Base Excess (BE) konnte in allen drei Versuchsgruppen an Messzeitpunkt 2 eine signifikante Verschiebung ins Negative, im Sinne einer metabolischen Azidose, gemessen werden, welche analog zu den gemessenen Laktatwerten in der 32°C-Interventionsgruppe am geringsten ausfiel. In der 35°C-Interventionsgruppe, sowie der Kontrollgruppe normalisierten sich die Werte an den Messzeitpunkten 3 und 4 wieder, in der 32°C-Interventionsgruppe blieb dies aus und zeigte einen signifikanten Unterschied zur 38°C-Kontrollgruppe. Auch dies geht mit den Beobachtungen bei der Messung des Laktatgehaltes, jedoch in deutlicherem Maße, einher.

Beim pH-Wert zeigte sich in allen Versuchsgruppen eine signifikante Veränderung in Richtung einer Azidose an den Folgemesszeitpunkten gegenüber MZP 1. Innerhalb der Messzeitpunkte kam es an den Messzeitpunkten 2 und 3 der 32°C-Interventionsgruppe zu einem signifikanten Unterschied gegenüber Messzeitpunkt 1 der Kontrollgruppe.

Aufgrund der Diskrepanz zwischen pH und Base Excess einerseits und dem Laktat andererseits scheint hier die verstärkte metabolische Azidose durch andere, wahrscheinlich fixe organische Säuren verursacht zu sein.

Tab. 4: Ergebnisse der hämodynamischen Messungen. Dargestellt sind jeweils der Median und die Quartilen der unterschiedlichen Versuchsgruppen.

38°C = Kontrollgruppe (n = 6), 35°C = 35°C-Interventionsgruppe (n = 7), 32°C = 32°C-Interventionsgruppe (n = 7), n = Anzahl der Versuchstiere, °C = Grad Celsius, MAP = mittlerer arterieller Blutdruck, ZVD = zentraler Venendruck min. = Minute, mmHg = Millimeter Quecksilbersäule, ml = Milliliter, kg = Kilogramm, MZP = Messzeitpunkt.
= p<0,05 versus MZP 1, § = p<0,05 versus 38°C-Kontrollgruppe.

		MZP 1	MZP 2	MZP 3	MZP 4
MAP in mmHg	32°C	82 (76; 91)	31 (28; 35) #	76 (74; 78) §	66 (57; 72) #§
	35°C	98 (87; 108)	30 (28; 33) #	95 (78; 111)	93 (75; 109)
	38°C	93 (89; 104)	28 (26; 30) #	100 (93; 105)	94 (77; 96)
Herzfrequenz in 1/min	32°C	88 (78;98)	141 (130; 152) #	150 (80; 159)	148 (117; 157) #
	35°C	99 (87; 106)	147 (139; 153) #	118 (113; 146) #	145 (142; 155) #
	38°C	97 (87; 116)	166 (151; 176) #	118 (110; 120)	115 (103; 140)
HZV in ml/ (min. x kg)	32°C	115 (105; 154)	43 (36; 53) #	116 (90; 128)	165 (93; 184)
	35°C	128 (117; 133)	40 (38; 46) #	119 (95; 141)	145 (107; 161)
	38°C	101 (89; 110)	41 (39; 48) #	140 (135; 151) #	143 (128; 190) #
ZVD in mmHG	32°C	10 (8; 11)	1 (0; 2) #	15 (13; 17) #	15 (13; 21) #
	35°C	9 (8; 9)	1 (0; 3) #	15 (14; 16) #	14 (12; 17) #
	38°C	9 (7; 10)	1 (0; 2)#	15 (13; 16) #	17 (16; 19) #

Der mittlere arterielle Blutdruck (MAP) zeigte an Messzeitpunkt 2 in Analogie zum hämorrhagischen Schock in allen Versuchsgruppen eine signifikante Verminderung gegenüber Messzeitpunkt 1. Der angestrebte Mitteldruck von 30 ± 3 mmHg wurde in allen Versuchsgruppen erreicht. In der Kontroll-, sowie der 35°C-Interventionsgruppe zeigte sich der MAP an den Messzeitpunkten 3 und 4 wieder, auf ein den Ausgangswerten ähnliches Niveau, ansteigend. In der 32°C-Interventionsgruppe an Messzeitpunkt 4 war der MAP gegenüber Messzeitpunkt 1 signifikant vermindert. Innerhalb der Messzeitpunkte wurde ein signifikanter

Unterschied an Messzeitpunkt 3 und 4 zwischen der 32°C-Interventionsgruppe und der Kontrollgruppe festgestellt.

Bei der Herzfrequenz (HF) kam es, ebenfalls passend zum hämorrhagischen Schock, in allen Versuchsgruppen an Messzeitpunkt 2 zu einem signifikanten Anstieg. In der 35°C-Interventionsgruppe konnte dieser Anstieg auch an Messzeitpunkt 3 und 4 beobachtet werden, ebenso wie an Messzeitpunkt 4 in der 32°C-Interventionsgruppe. Innerhalb der Messzeitpunkte kam es zu keinen signifikanten Abweichungen.

Das Herzzeitvolumen (HZV) zeigte ebenfalls an Messzeitpunkt 2 einen signifikanten Abfall. In allen Gruppen kam es nach Retransfusion zu einem Anstieg des HZV, welches an den Messzeitpunkten 3, bzw. 4 die Ausgangswerte überstieg. Dies war jedoch nur in der Kontrollgruppe signifikant. In den Interventionsgruppen war dies nicht so stark ausgeprägt.

Beim zentralen Venendruck (ZVD) konnte ein signifikanter Abfall an Messzeitpunkt 2, gegenüber Messzeitpunkt 1 der jeweiligen Versuchsgruppe, in allen Versuchsgruppen gemessen werden. Zudem kam es an den Messzeitpunkten 3 und 4 zu einem signifikanten Anstieg gegenüber Messzeitpunkt 1, ebenfalls in allen Versuchsgruppen.

3.3 Thrombozyten

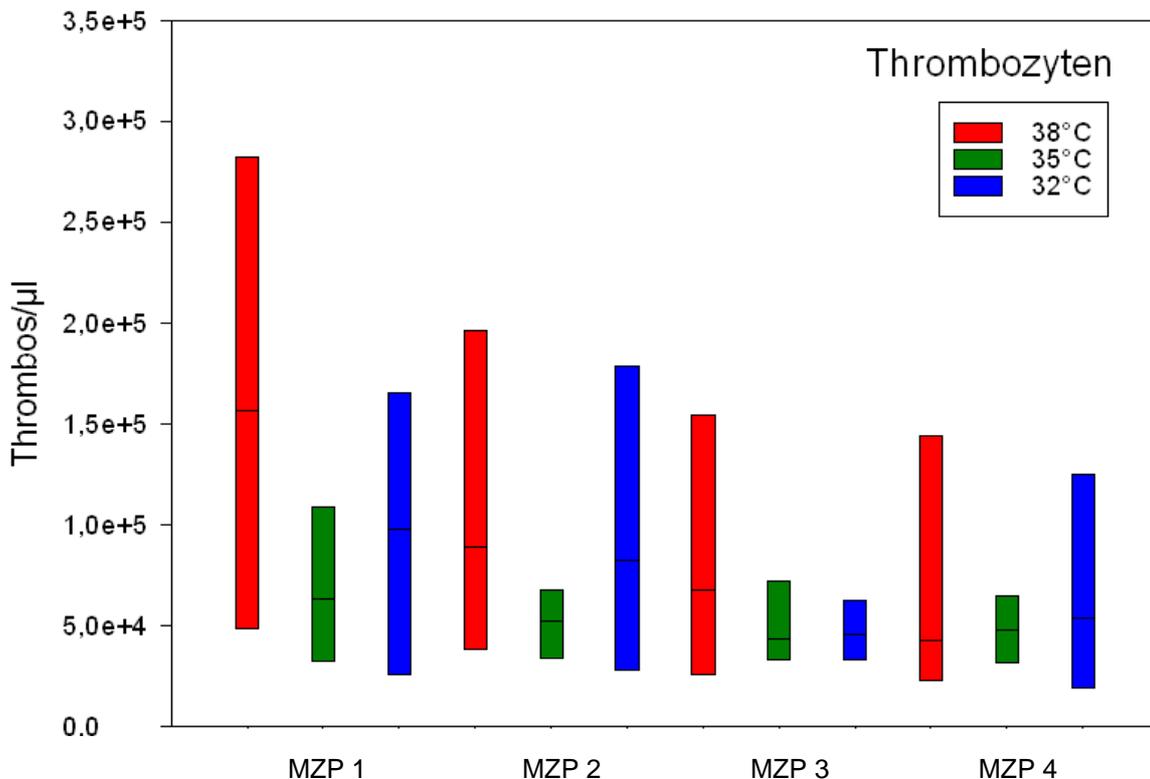


Abb. 6: Darstellung der Thrombozytenanzahl (Thrombos) an den vier Messzeitpunkten bei unterschiedlicher Körpertemperatur der Versuchstiere.

Dargestellt sind jeweils der Median und die Quartilen. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede in den Messungen.

$n_{38^{\circ}\text{C}} = 6$, $n_{35^{\circ}\text{C}} = 7$, $n_{32^{\circ}\text{C}} = 7$, μl = Mikroliter, MZP = Messzeitpunkt, $^{\circ}\text{C}$ = Grad Celsius

In Abbildung 6 ist die Thrombozytenzahl der gekühlten Versuchsgruppen gegenüber der Kontrollgruppe dargestellt. Es wurde den Tieren an 4 Messzeitpunkten Vollblut entnommen und entsprechend untersucht.

Die Anzahl der Thrombozyten im EDTA-Blut unterschied sich zwischen den verschiedenen Temperaturgruppen innerhalb der Messzeitpunkte nicht signifikant voneinander.

Auch innerhalb der einzelnen Temperaturgruppen gab es zu den verschiedenen Messzeitpunkten keine signifikanten Unterscheidungen bezüglich der Thrombozytenzahlen.

An allen Messzeitpunkten, sowie in allen Versuchsgruppen lagen die Messwerte der Thrombozyten unter dem für Schweine bestimmten Referenzwert ($165-650 \times 10^3/\mu\text{l}$) (Velik-Salchner et al. 2006).

Es bestand also zu jedem Messzeitpunkt in allen Versuchsgruppen eine unterschiedlich stark ausgeprägte Thrombozytopenie, die jedoch keine signifikanten Unterschiede aufwies. Da Messzeitpunkt 1 nach der chirurgischen Präparationsphase lag, war hier bereits ein gewisser Blutverlust, sowie eine Verdünnung durch Infusionslösungen vorhanden.

3.4 Thrombin- Antithrombin- Komplex (TAT)

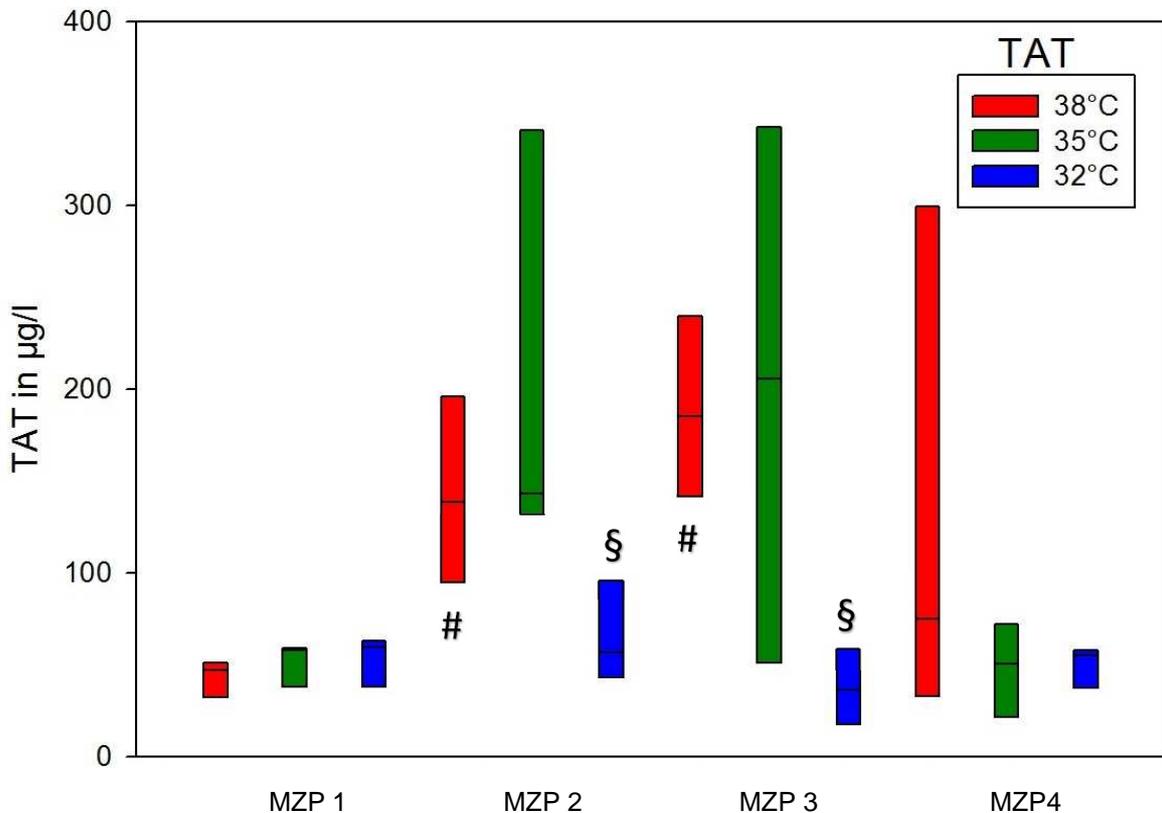


Abb. 7: Darstellung der Thrombin-Antithrombin-Komplexe (TAT) an den vier Messzeitpunkten bei unterschiedlicher Körpertemperatur der Versuchstiere.

Dargestellt sind jeweils der Median und die Quartilen.

$n_{38^{\circ}\text{C}} = 6$, $n_{35^{\circ}\text{C}} = 7$, $n_{32^{\circ}\text{C}} = 7$, μg = Mikrogramm, l = Liter, MZP = Messzeitpunkt,

$^{\circ}\text{C}$ = Grad Celsius, # = $p < 0,05$ versus MZP 1, § = $p < 0,05$ versus 38°C -Kontrollgruppe am gleichen MZP.

In Abb. 7 ist der Thrombin-Antithrombin-Komplex der einzelnen Versuchsgruppen im zeitlichen Verlauf dargestellt.

In der Kontroll- und in der 35°C -Interventionsgruppe stiegen die Werte bis zu Messzeitpunkt 3 stark an, an Messzeitpunkt 4 fielen sie drastisch ab. In der Kontrollgruppe waren diese Veränderungen an Messzeitpunkt 2 und Messzeitpunkt 3, jeweils verglichen mit Messzeitpunkt 1, signifikant ($p_{38^{\circ}\text{C}} = 0,013$). Ebenso signifikant war der Unterschied in der 35°C -Interventionsgruppe ($p_{35^{\circ}\text{C}} = 0,016$).

In der 32°C-Interventionsgruppe konnte diese Dynamik nicht nachgewiesen werden. Die Messwerte bewegten sich auf einem niedrigen Niveau mit geringen Schwankungen, ohne statistische Signifikanz.

Wenn man die Ergebnisse innerhalb der Messzeitpunkte vergleicht, fällt auf, dass die Messwerte an den Messzeitpunkten 2 und 3 in der 32°C-Interventionsgruppe weit niedriger sind (36 bzw. 56µg/l vs. 139 bis 205µg/l), als die der anderen beiden Gruppen. An beiden Messzeitpunkten sind die Unterschiede zwischen der Kontroll- und der 32°C-Interventionsgruppe signifikant ($p_{\text{MZP } 2} = 0,011$; $p_{\text{MZP } 3} = 0,012$). Zu den Messzeitpunkten 3 und 4 bewegen sich die gemessenen Werte zwischen 54 und 75µg/l.

Meist liegen die hier bestimmten Mediane über dem Referenzwert (0-50µg/l) (Velik-Salchner et al. 2006). Einzig der Median der Kontrollgruppe an Messzeitpunkt 1, sowie der Median der 32°C-Interventionsgruppe an MZP 3 liegen im Referenzbereich.

Die erhöhten TAT-Werte sprechen für eine, unterschiedlich starke, Thrombin-Aktivierung, beispielsweise durch disseminierte intravasale Gerinnung, Thrombose- oder Embolieereignisse.

3.5 EXTEM

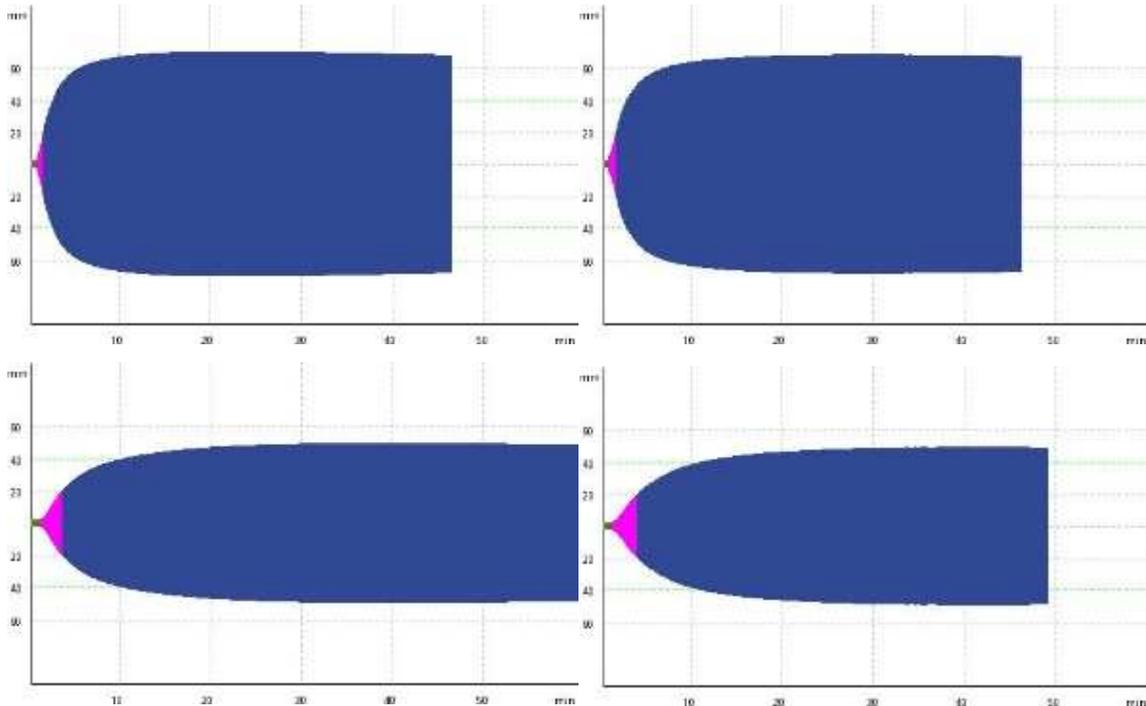


Abb. 8: typische Thrombelastogramme EXTEM bei 38°C, Messzeitpunkte 1 bis 4.

Zunehmende Gerinnselfestigkeit gegenüber der Zeit aufgetragen. Eine fehlende Blutgerinnung ohne Einschränkung der Pinbeweglichkeit entspricht einer Amplitude von 0mm, bei vollständig aufgehobener Beweglichkeit des Pins wird eine Amplitude von 100mm registriert.

mm = Millimeter, min = Minute, in grün dargestellt die Clotting Time (CT),

in pink dargestellt die Clotting Formation Time (CFT), in blau dargestellt: Amplitude größer als 20 mm.

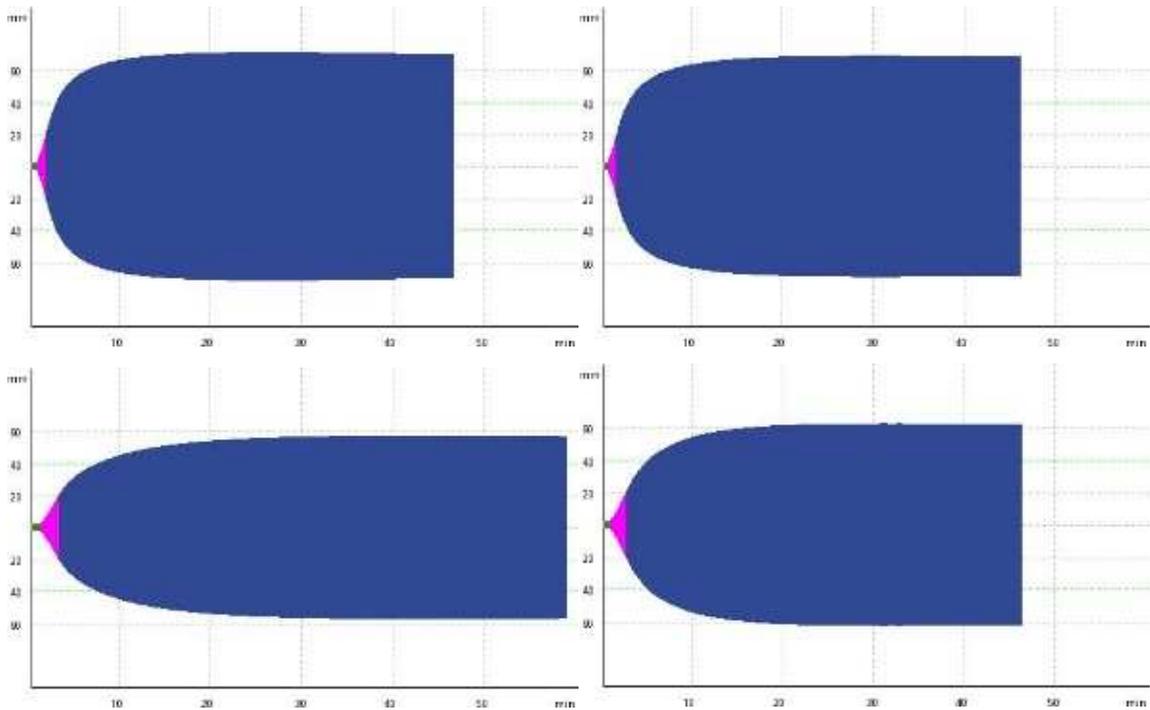


Abb. 9: typische Thrombelastogramme EXTEM bei 35°C, Messzeitpunkt 1 bis 4.

Zunehmende Gerinnselfestigkeit gegenüber der Zeit aufgetragen. Eine fehlende Blutgerinnung ohne Einschränkung der Pinbeweglichkeit entspricht einer Amplitude von 0mm, bei vollständig aufgehobener Beweglichkeit des Pins wird eine Amplitude von 100mm registriert.

mm = Millimeter, min = Minute, in grün dargestellt die Clotting Time (CT), in pink dargestellt die Clotting Formation Time (CFT), in blau dargestellt: Amplitude größer als 20 mm.

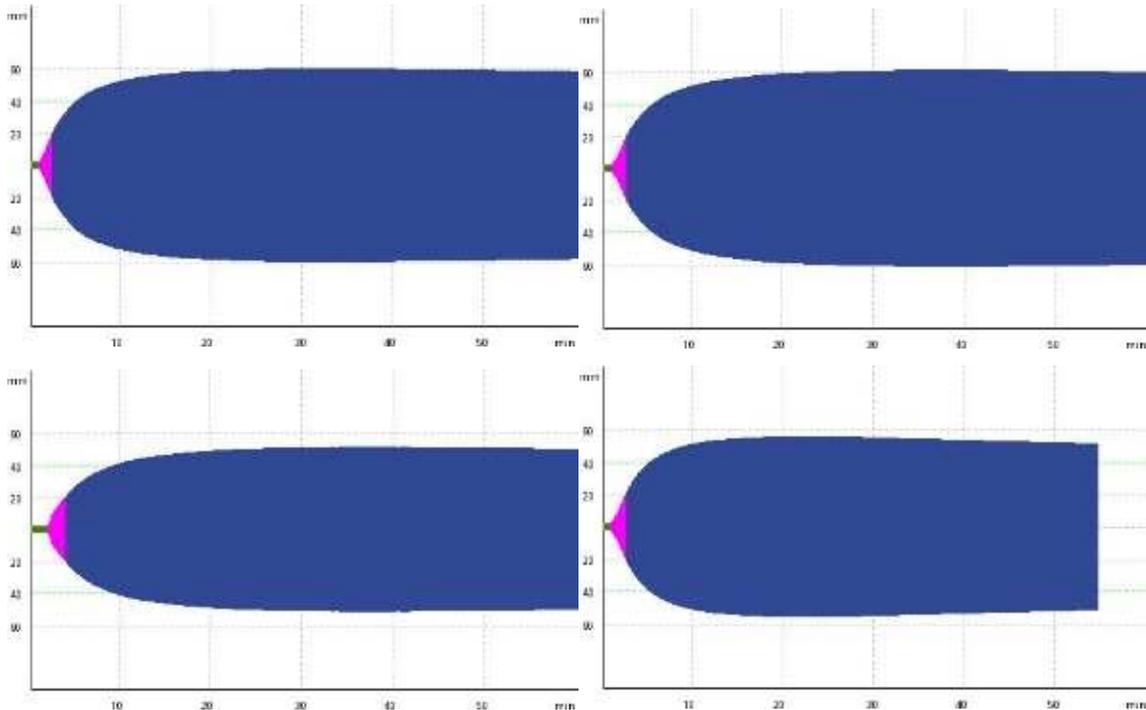


Abb. 10: typische Thrombelastogramme EXTEM bei 32°C, Messzeitpunkt 1 bis 4.

Zunehmende Gerinnselfestigkeit gegenüber der Zeit aufgetragen. Eine fehlende Blutgerinnung ohne Einschränkung der Pinbeweglichkeit entspricht einer Amplitude von 0mm, bei vollständig aufgehobener Beweglichkeit des Pins wird eine Amplitude von 100mm registriert

mm = Millimeter, min = Minute, in grün dargestellt die Clotting Time (CT), in pink dargestellt die Clotting Formation Time (CFT), in blau dargestellt: Amplitude größer als 20 mm.

In Abb. 8 bis 10 sind typische Thrombelastogramme bei Messung des extrinsischen Teils der Gerinnungskaskade dargestellt.

3.5.1 CT EXTEM

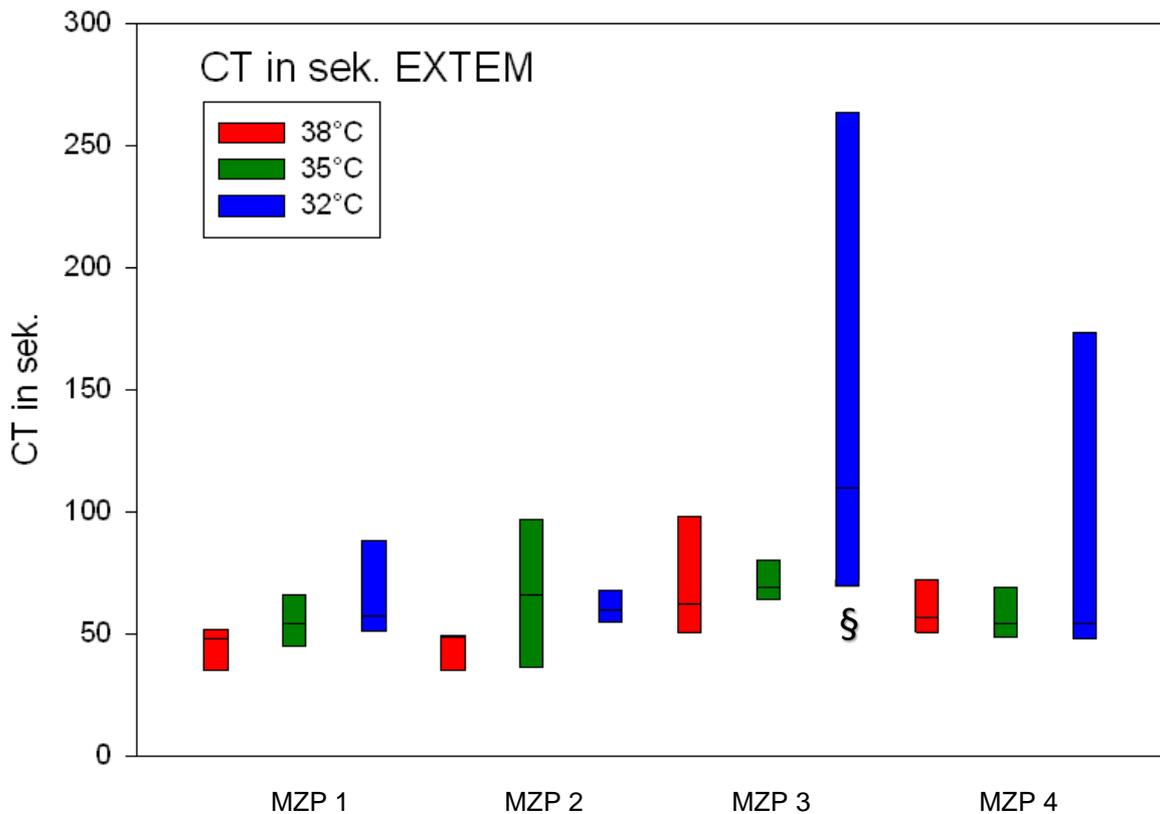


Abb. 11: Darstellung der Clotting-Time (CT) an den vier Messzeitpunkten bei unterschiedlicher Körpertemperatur der Versuchstiere.

Dargestellt sind jeweils der Median und die Quartilen.

$n_{38^{\circ}\text{C}} = 6$, $n_{35^{\circ}\text{C}}$ und $n_{32^{\circ}\text{C}} = 7$, sek. = Sekunden, MZP = Messzeitpunkt, °C = Grad Celsius,

§ = $p < 0,05$ versus 38°C-Kontrollgruppe.

In Abb. 11 ist die Clotting-Time der einzelnen Versuchsgruppen im zeitlichen Verlauf dargestellt.

Beim Vergleich der Versuchsgruppen an Messzeitpunkt 1 und Messzeitpunkt 4 wurde aufgrund einer Normalverteilung der Daten der Mittelwert berechnet. Hier ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen.

An Messzeitpunkt 2 wurde aufgrund fehlender Normalverteilung der Median berechnet. Auch hier fehlen statistisch signifikante Unterschiede gegenüber der Kontrollgruppe.

An Messzeitpunkt 3 zeigten sich ein statistisch signifikanter Unterschied der 32°C-Interventions- gegenüber der Kontrollgruppe bzgl. der Mediane, bei nicht vorhandener Normalverteilung, ($p_{\text{MZP 3}} = 0,044$) bezüglich der Clotting-Time.

Innerhalb der Kontrollgruppe zeigten die Mediane der Messwerte über die Zeit keinen statistisch signifikanten Unterschied gegenüber Messzeitpunkt 1.

In der 35°C-, sowie in der 32°C-Interventionsgruppe veränderten sich die Messwerte ebenfalls nicht signifikant gegenüber Messzeitpunkt 1.

Fast alle der hier bestimmten Mediane bzw. Mittelwerte liegen im Referenzbereich (37- 80s) (Velik-Salchner et al. 2006). Nur der Median der 32°C-Interventionsgruppe am MZP 3 liegt über dem Referenzbereich.

Eine normale Clotting-Time schließt einen Mangel an Gerinnungsfaktoren des extrinsischen Gerinnungssystems weitgehend aus. Dies scheint lediglich eine Rolle an Messzeitpunkt 3 der 32°C-Interventionsgruppe eine Rolle zu spielen.

3.5.2 CFT EXTEM

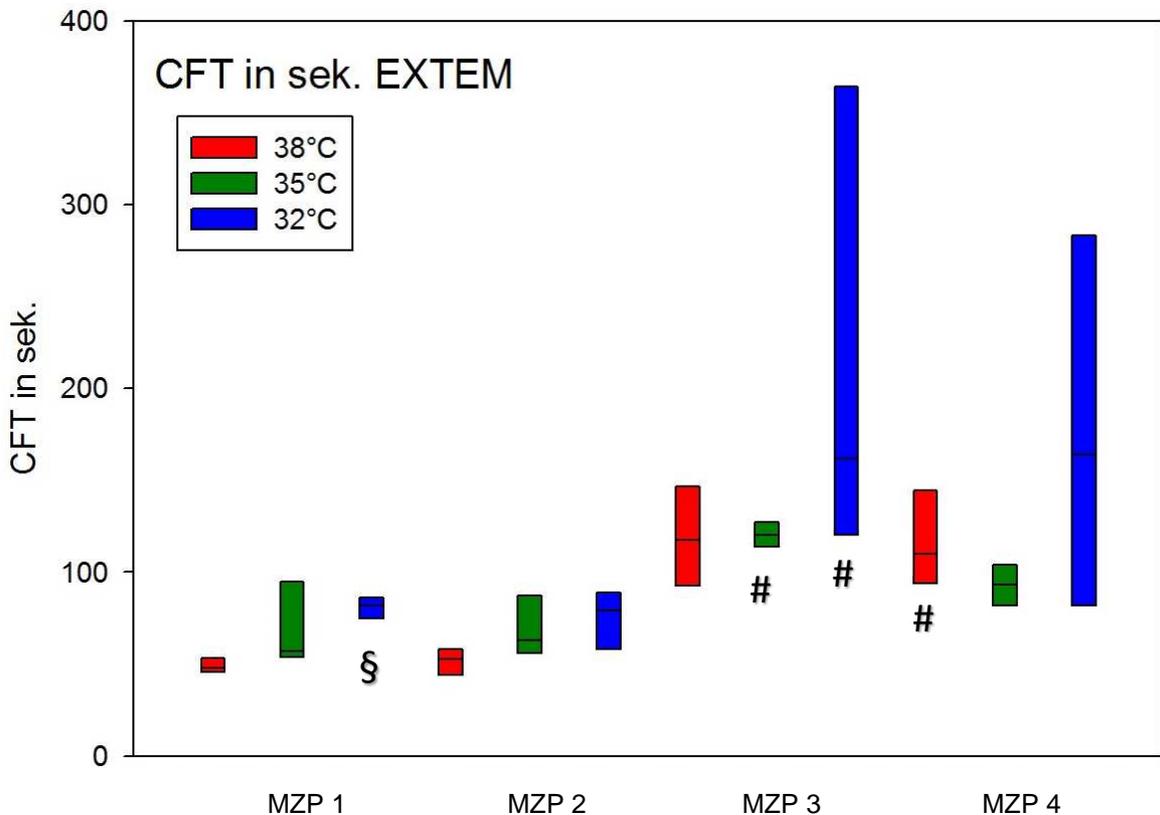


Abb. 12: Darstellung der Clotting-Formation-Time (CFT) an dem vier Messzeitpunkten bei unterschiedlichen Körpertemperatur der Versuchstiere.

Dargestellt sind jeweils der Median und die Quartilen.

$n_{38^{\circ}\text{C}} = 6$, $n_{35^{\circ}\text{C}}$ und $n_{32^{\circ}\text{C}} = 7$, sek. = Sekunden, MZP = Messzeitpunkt, °C = Grad Celsius,

= $p < 0,05$ versus MZP 1, § = $p < 0,05$ versus 38°C-Kontrollgruppe.

In Abb. 12 ist die Clotting-Formation-Time der einzelnen Versuchsgruppen im zeitlichen Verlauf dargestellt.

An den einzelnen Messzeitpunkten tritt lediglich bei Messzeitpunkt 1 ein signifikanter Unterschied zwischen der 32°C-Interventionsgruppe und der Kontrollgruppe auf ($p_{\text{MZP1}} = 0,002$).

Innerhalb der Kontrollgruppe zeigt sich ein signifikanter Unterschied zwischen Messzeitpunkt 4 und Messzeitpunkt 1 ($p_{38^{\circ}\text{C}} = 0,001$).

In der 35°C-Interventionsgruppe, sowie in der 32°C-Interventionsgruppe tritt ein signifikanter Unterschied zwischen Messzeitpunkt 3 und Messzeitpunkt 1 auf ($p_{35^\circ\text{C}} = 0,002$; $p_{32^\circ\text{C}} = 0,003$).

Fast alle der hier bestimmten Mediane bzw. Mittelwerte liegen oberhalb des Referenzbereiches (22- 50s) (Velik-Salchner et al. 2006). Lediglich der Median der Kontrollgruppe am Messzeitpunkt 1 liegt innerhalb des Referenzbereiches.

Die spricht für verschlechterte/ verminderte Fibrinpolymerisation, Thrombozyten, Faktor XIII und/ oder Thrombingenerierung an allen Messzeitpunkten, außer Messzeitpunkt 1 der Kontrollgruppe.

3.5.3 MCF EXTEM

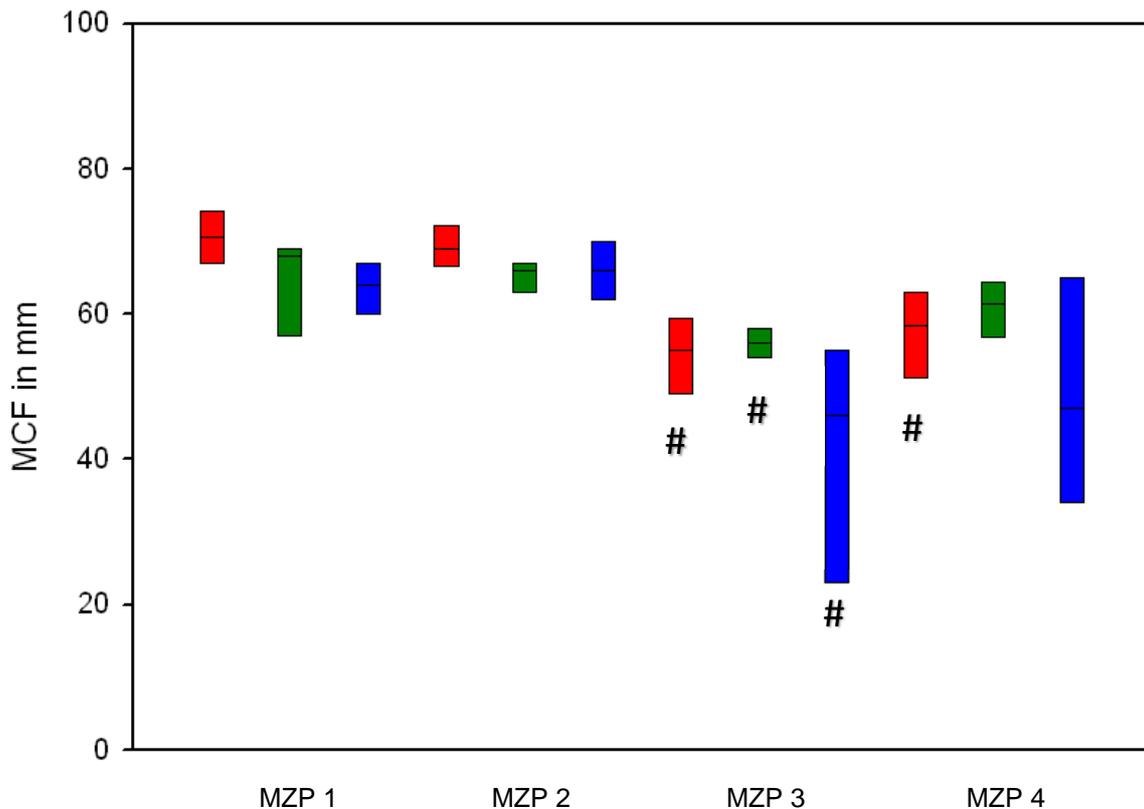


Abb. 13: Darstellung der Maximum-Clot-Firmness (MCF) an den vier Messzeitpunkten bei unterschiedlicher Körpertemperatur der Versuchstiere.

Dargestellt sind jeweils der Median und die Quartilen.

$n_{38^{\circ}\text{C}} = 6$, $n_{35^{\circ}\text{C}}$ und $n_{32^{\circ}\text{C}} = 7$, mm = Millimeter, MZP = Messzeitpunkt, $^{\circ}\text{C}$ = Grad Celsius,

= $p < 0,05$ versus MZP 1.

In Abb. 13 ist die Maximum-Clot-Firmness der einzelnen Versuchsgruppen im zeitlichen Verlauf dargestellt.

An Messzeitpunkten 1 bis 3 wurden aufgrund von Normalverteilung jeweils die Mittelwerte berechnet. Hier zeigten sich keine signifikanten Unterscheidungen zwischen den Versuchsgruppen.

Am Messzeitpunkt 4 lag der Median in der Kontrollgruppe bei 58,5mm, in der 35°C-Interventionsgruppe bei 61,5mm und in der 32°C-Interventionsgruppe bei 47,0mm. Daraus ergibt sich ebenfalls kein signifikanter Unterschied zwischen den drei Gruppen.

In der Kontrollgruppe zeigten die Mittelwerte bei Normalverteilung der Messzeitpunkte 3 und 4 einen statistisch signifikanten Unterschied gegenüber Messzeitpunkt 1 ($p_{38^{\circ}\text{C}} < 0,001$).

In der 35°C-Interventionsgruppe veränderten sich die Mediane über die Zeit ebenfalls signifikant zwischen Messzeitpunkt 1 und Messzeitpunkt 3 ($p_{35^{\circ}\text{C}} = 0,011$).

Auch in der 32°C-Interventionsgruppe zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied im zeitlichen Verlauf der Mediane zwischen Messzeitpunkt 1 und Messzeitpunkt 3, ($p_{32^{\circ}\text{C}} = 0,002$).

Die hier bestimmten Mediane bzw. Mittelwerte liegen meist unterhalb des Referenzbereiches (66-81mm) (Velik-Salchner et al. 2006). Nur die Werte der Messzeitpunkte 1 und 2 der Kontrollgruppe liegen im Referenzbereich. Die Maximum-Clot-Firmness wird durch das Zusammenspiel von Fibrin, Thrombozyten und Faktor XIII beeinflusst.

Für eine weitere Differenzierung wird noch der FIBTEM-Test benötigt.

Am deutlichsten sind die Werte an den Messzeitpunkten 3 und 4 der 32°C-Interventionsgruppe erniedrigt.

3.5.4 ML EXTEM

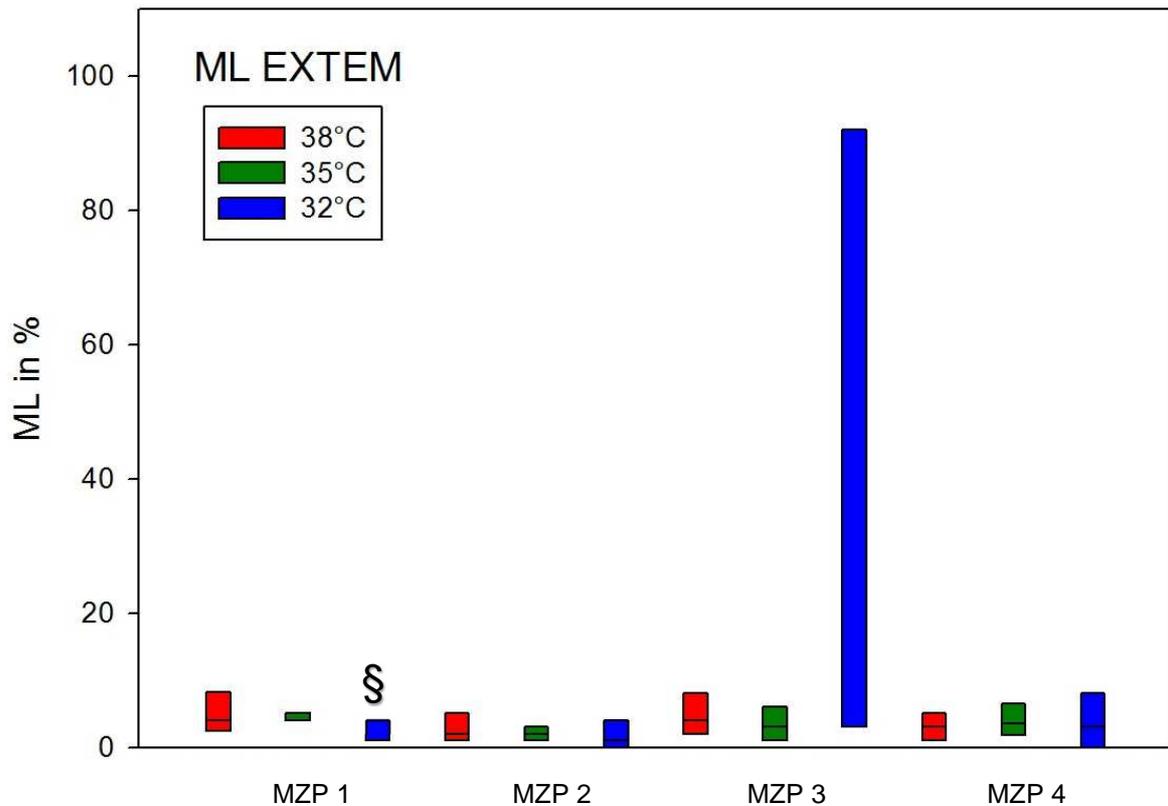


Abb. 14: Darstellung der Maximum-Lysis (ML) an den vier Messzeitpunkten bei unterschiedlicher Körpertemperatur der Versuchstiere.

Dargestellt sind jeweils der Median und die Quartilen.

$n_{38^{\circ}\text{C}} = 6$, $n_{35^{\circ}\text{C}} = 7$, $n_{32^{\circ}\text{C}} = 7$, % = Prozent, MZP = Messzeitpunkt, °C = Grad Celsius,

§ = $p < 0,05$ versus 38°C-Kontrollgruppe.

In Abb. 14 ist die Maximum-Lysis (ML) der einzelnen Versuchsgruppen im zeitlichen Verlauf dargestellt.

Am Messzeitpunkt 1 lag der Mittelwert in der Kontrollgruppe bei 4,8%, in der 35°C-Interventionsgruppe bei 4,3% und in der 32°C-Interventionsgruppe bei 2,0%. Daraus ergibt sich ein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und 32°C-Interventionsgruppe ($p_{\text{MZP1}} = 0,048$).

Am Messzeitpunkt 2 zeigten die Mittelwerte der Kontrollgruppe keinen signifikanten Unterschied zwischen den drei Gruppen.

An den Messzeitpunkten 3 und 4 zeigten die Mediane der Kontrollgruppe ebenfalls keinen signifikanten Unterschied zwischen den drei Gruppen.

In keiner der drei Versuchsgruppen zeigten die Mediane bzw. Mittelwerte über die Zeit einen statistisch signifikanten Unterschied.

Beim Menschen wird eine maximale Lyse von $\leq 15\%$ als stabiles Gerinnsel ohne Fibrinolyse angesehen. Bezüglich des Schweineblutes wurden keine Referenzwerte gefunden.

3.6 HEPTEM

Um auszuschließen, dass Heparin, mit welchem Katheter und 3-Wege-Hähne gespült wurde, die Messwerte beeinflusst, werden hier die Werte der HEPTEM-Messungen, anstatt denen der INTEM-Messungen dargestellt und später interpretiert.

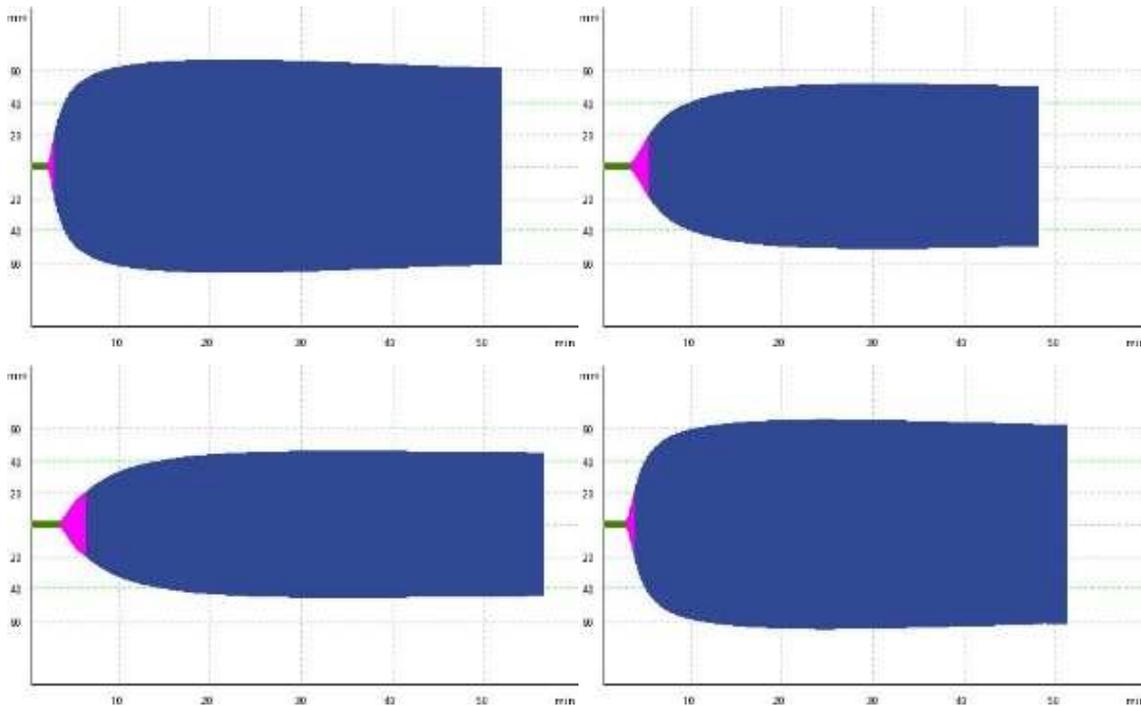


Abb. 15: typische Thrombelastogramme HEPTEM bei 38°C, Messzeitpunkt 1 bis 4.

Zunehmende Gerinnselfestigkeit gegenüber der Zeit aufgetragen. Eine fehlende Blutgerinnung ohne Einschränkung der Pinbeweglichkeit entspricht einer Amplitude von 0mm, bei vollständig aufgehobener Beweglichkeit des Pins wird eine Amplitude von 100mm registriert.

mm = Millimeter, min = Minute, in grün dargestellt die Clotting Time (CT), in pink dargestellt die Clotting Formation Time (CFT), in blau dargestellt: Amplitude größer als 20 mm.

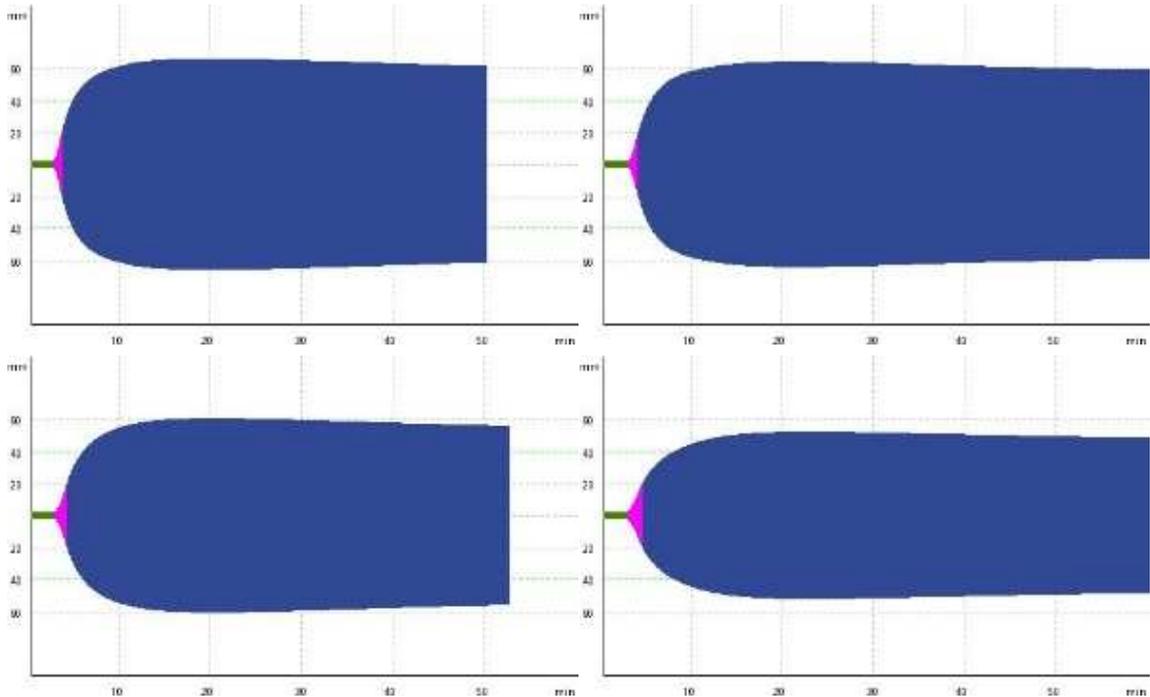


Abb. 16: typische Thrombelastogramme HEPTEM bei 35°C, Messzeitpunkt 1 bis 4.

Zunehmende Gerinnselfestigkeit gegenüber der Zeit aufgetragen. Eine fehlende Blutgerinnung ohne Einschränkung der Pinbeweglichkeit entspricht einer Amplitude von 0mm, bei vollständig aufgehobener Beweglichkeit des Pins wird eine Amplitude von 100mm registriert.

mm = Millimeter, min = Minute, in grün dargestellt die Clotting Time (CT), in pink dargestellt die Clotting Formation Time (CFT), in blau dargestellt: Amplitude größer als 20 mm.

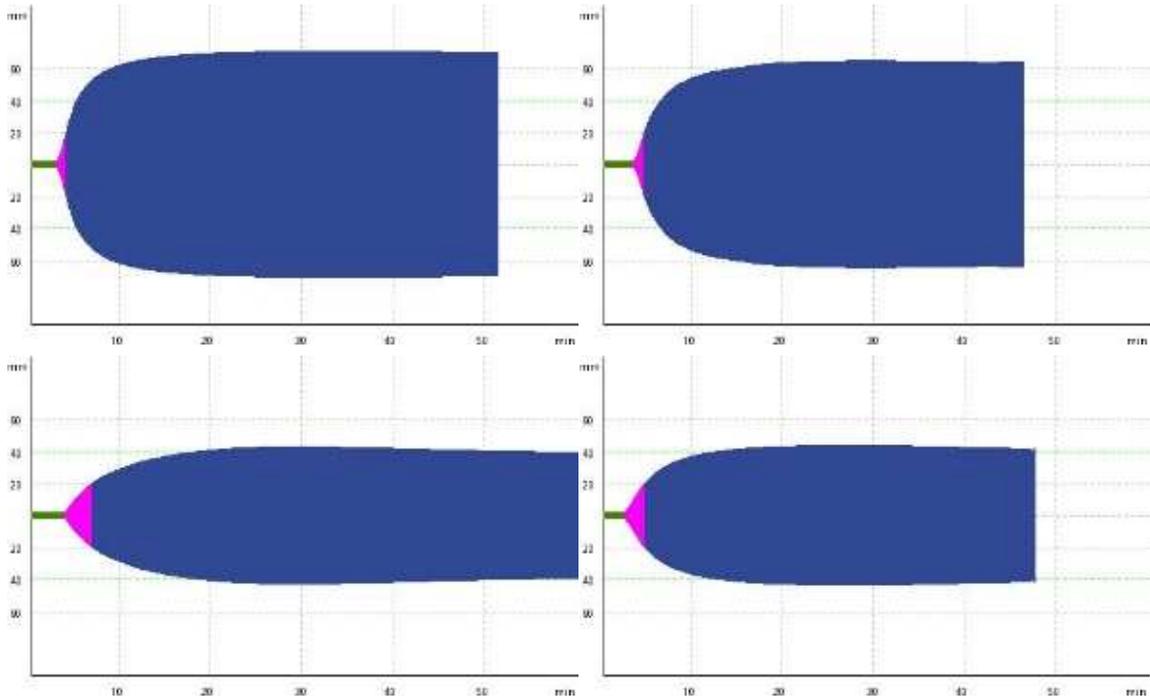


Abb. 17: typische Thrombelastogramme HEPTEM bei 32°C, Messzeitpunkt 1 bis 4.

Zunehmende Gerinnselfestigkeit gegenüber der Zeit aufgetragen. Eine fehlende Blutgerinnung ohne Einschränkung der Pinbeweglichkeit entspricht einer Amplitude von 0mm, bei vollständig aufgehobener Beweglichkeit des Pins wird eine Amplitude von 100mm registriert

mm = Millimeter, min = Minute, in grün dargestellt die Clotting Time (CT),
in pink dargestellt die Clotting Formation Time (CFT), in blau dargestellt: Amplitude größer als 20 mm.

In Abb. 15 bis 17 sind typische Thrombelasogramme bei Messung des intrinsischen Teils der Gerinnungskaskade, unter Antagonisierung von Heparin, dargestellt.

3.6.1 CT HEPTEM

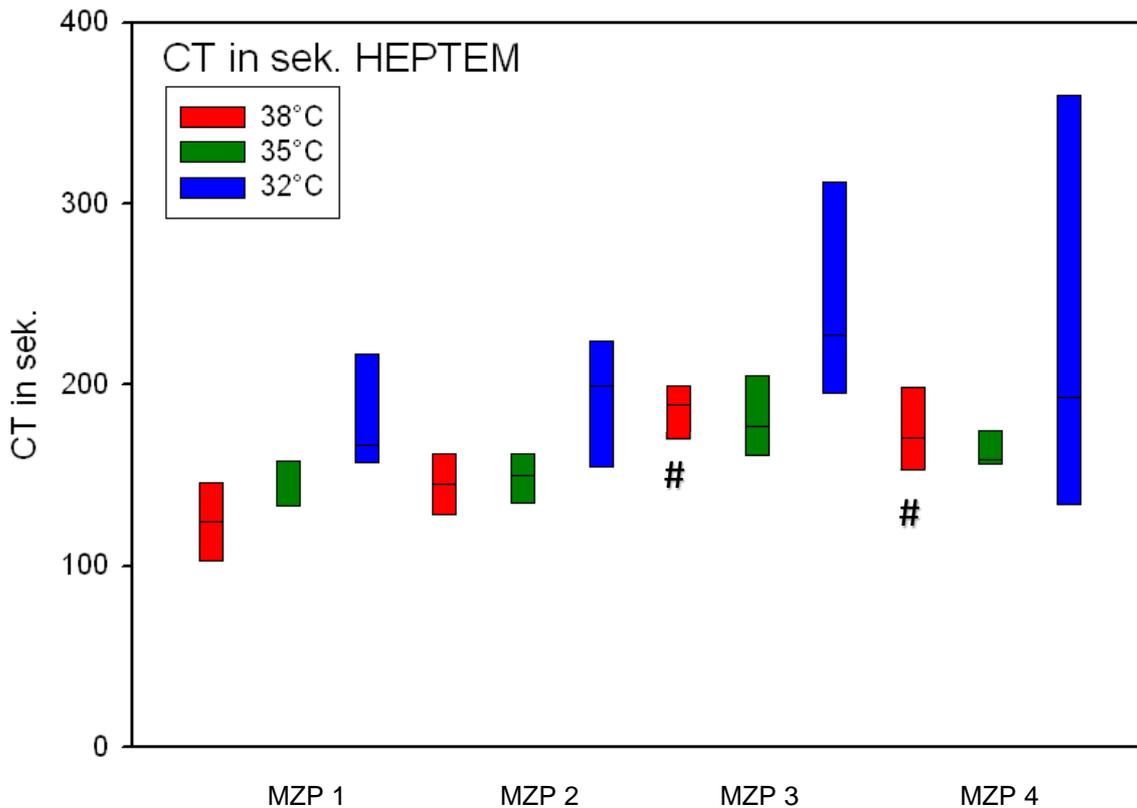


Abb. 18: Darstellung der Clotting-Time (CT) an den vier Messzeitpunkten bei unterschiedlicher Körpertemperatur der Versuchstiere.

Dargestellt sind jeweils der Median und die Quartilen.

$n_{38^{\circ}\text{C}} = 6$, $n_{35^{\circ}\text{C}} = 7$ und $n_{32^{\circ}\text{C}} = 7$, sek. = Sekunden, MZP = Messzeitpunkt, °C = Grad Celsius,

= $p < 0,05$ versus MZP 1.

In Abb. 18 ist die Clotting-Time der einzelnen Versuchsgruppen im zeitlichen Verlauf dargestellt.

Am Messzeitpunkt 1 lag der Mittelwert in der Kontrollgruppe bei 125,0s, in der 35°C-Interventionsgruppe bei 150,1s und in der 32°C-Interventionsgruppe bei 182,9s. Daraus ergibt sich ein signifikanter Unterschied zwischen der 32°C-Interventions- und der Kontrollgruppe ($p_{\text{MZP1}} = 0,008$).

An den Messzeitpunkten 2 bis 4 zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen.

In der Kontrollgruppe zeigten die Mittelwerte der Messzeitpunkte 3 und 4 einen statistisch signifikanten Unterschied gegenüber Messzeitpunkt 1 ($p_{38^{\circ}\text{C}} < 0,001$).

Sowohl in der 32°C- wie auch in der 35°C-Interventionsgruppe zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied im zeitlichen Verlauf.

Die hier bestimmten Mediane bzw. Mittelwerte liegen meist innerhalb des Referenzbereiches (63-212s) (Velik-Salchner et al. 2006). Nur der Wert von Messzeitpunkt 3 der 32°C-Interventionsgruppe liegt, genauso wie bei der CT EXTEM Messung, über dem Referenzbereich.

Eine normale Clotting-Time schließt einen Mangel an Gerinnungsfaktoren des intrinsischen Gerinnungssystems weitgehend aus. Dies scheint lediglich eine Rolle an Messzeitpunkt 3 der 32°C-Interventionsgruppe eine Rolle zu spielen.

3.6.2 CFT HEPTEM

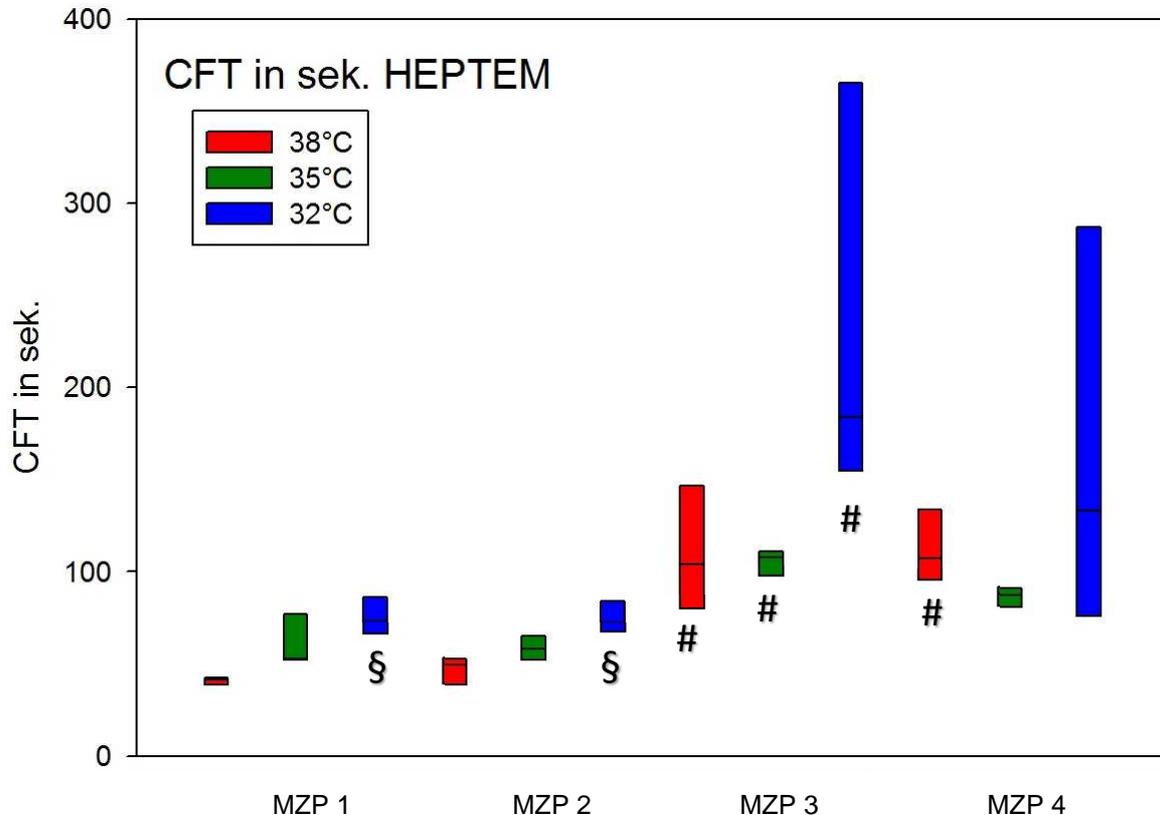


Abb. 19: Darstellung der Clotting-Formation-Time (CFT) an den vier Messzeitpunkten bei unterschiedlicher Körpertemperatur der Versuchstiere.

Dargestellt sind jeweils der Median und die Quartilen.

$n_{38^{\circ}\text{C}} = 6$, $n_{35^{\circ}\text{C}}$ und $n_{32^{\circ}\text{C}} = 7$, sek. = Sekunden, MZP = Messzeitpunkt, °C = Grad Celsius, # = $p < 0,05$ versus MZP 1, § = $p < 0,05$ versus 38°C-Kontrollgruppe.

In Abb. 19 ist die Clotting-Formation-Time der einzelnen Versuchsgruppen im zeitlichen Verlauf dargestellt.

Am Messzeitpunkt 1 lag der Median in der Kontrollgruppe bei 41,5s, in der 35°C-Interventionsgruppe bei 53,0s und in der 32°C-Interventionsgruppe bei 73,0s. Daraus ergibt sich ein signifikanter Unterschied zwischen der 32°C-Interventions- und der Kontrollgruppe ($p_{\text{MZP1}}=0,001$).

Am Messzeitpunkt 2 lag der Median in der Kontrollgruppe bei 49,5s, in der 35°C-Interventionsgruppe bei 58,0s und in der 32°C-Interventionsgruppe bei 72,0s. Daraus ergibt sich ein signifikanter Unterschied zwischen der 32°C-Interventions- und der Kontrollgruppe ($p_{\text{MZP1}}=0,002$).

An den Messzeitpunkten 3 und 4 zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen.

In der Kontrollgruppe zeigten die Mediane der Messzeitpunkte 3 und 4 einen signifikanten Unterschied gegenüber Messzeitpunkt 1 ($p_{38^{\circ}\text{C}} < 0,001$).

Sowohl in der 32°C- wie auch in der 35°C-Interventionsgruppe zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Messzeitpunkten 3 und 1.

Die hier bestimmten Mediane bzw. Mittelwerte liegen meist über dem Referenzbereich (21-54s) (Velik-Salchner et al. 2006). Lediglich die Werte der Kontroll- und 35°C-Interventionsgruppe an Messzeitpunkt 1 sowie der Kontrollgruppe an Messzeitpunkt 2 liegen im Referenzbereich.

Dies spricht für verschlechterte/ verminderte Fibrinpolymerisation, Thrombozyten, Faktor XIII und/ oder Thrombingenerierung an allen Messzeitpunkten, außer Messzeitpunkt 1 der Kontrollgruppe.

3.6.3 MCF HEPTEM

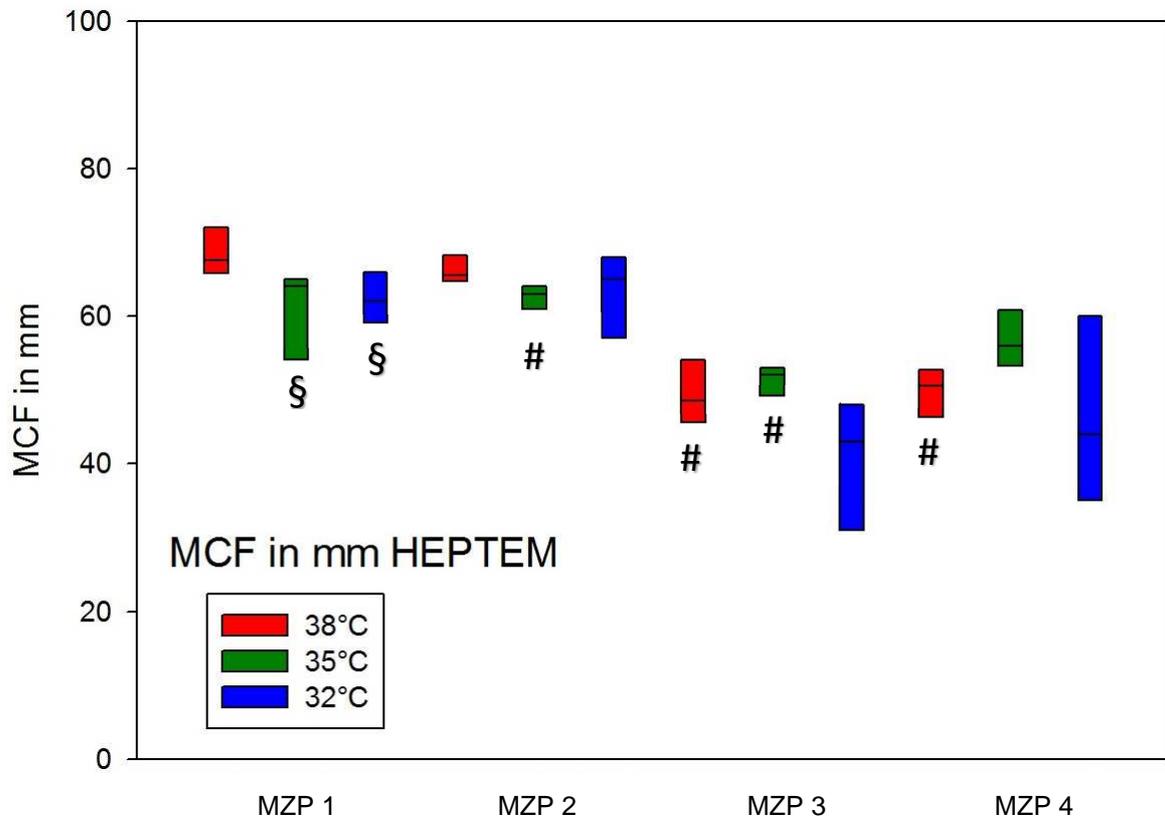


Abb. 20: Darstellung der Maximum-Clot-Firmness (MCF) an den vier Messzeitpunkten bei unterschiedlicher Körpertemperatur der Versuchstiere.

Dargestellt sind jeweils der Median und die Quartilen.

$n_{38^{\circ}\text{C}} = 6$, $n_{35^{\circ}\text{C}}$ und $n_{32^{\circ}\text{C}} = 7$, mm = Millimeter, MZP = Messzeitpunkt, °C = Grad Celsius, # = $p < 0,05$ versus MZP 1; § = $p < 0,05$ versus 38°C-Kontrollgruppe.

In Abb. 20 ist die Maximum-Clot-Firmness der einzelnen Versuchsgruppen im zeitlichen Verlauf dargestellt.

Am Messzeitpunkt 1 lag der Mittelwert in der Kontrollgruppe bei 68,7mm, in der 35°C-Interventionsgruppe bei 61,6mm und in der 32°C-Interventionsgruppe bei 62,3mm. Daraus ergibt sich ein signifikanter Unterschied zwischen der 32°C-Interventions- und der Kontrollgruppe, sowie zwischen der 35°C-Interventionsgruppe und der Kontrollgruppe ($p_{\text{MZP1}}=0,046$).

Zu den Messzeitpunkten 2 bis 4 wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen nachgewiesen.

In der Kontrollgruppe zeigten die Mittelwerte bei Normalverteilung der Messzeitpunkte 3 und 4 einen statistisch signifikanten Unterschied gegenüber Messzeitpunkt 1 ($p_{38^{\circ}\text{C}} < 0,001$).

In der 35°C-Interventionsgruppe veränderten sich die Mediane über die Zeit ebenfalls signifikant zwischen Messzeitpunkt 1 und Messzeitpunkt 3, sowie zwischen Messzeitpunkt 1 und Messzeitpunkt 2 ($p_{35^{\circ}\text{C}} = 0,011$).

In der 32°C-Interventionsgruppe zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied im zeitlichen Verlauf.

Die hier bestimmten Mediane bzw. Mittelwerte liegen zum Teil unter dem Referenzbereich (61-79mm) (Velik-Salchner et al. 2006). Die Werte der Messzeitpunkte 1 und 2 liegen im Referenzbereich, die Werte der Messzeitpunkte 3 und 4 liegen darunter. Die Maximum-Clot-Firmness wird durch das Zusammenspiel von Fibrin, Thrombozyten und Faktor XIII beeinflusst.

Für eine weitere Differenzierung wird noch der FIBTEM-Test benötigt.

3.6.4 ML HEPTEM

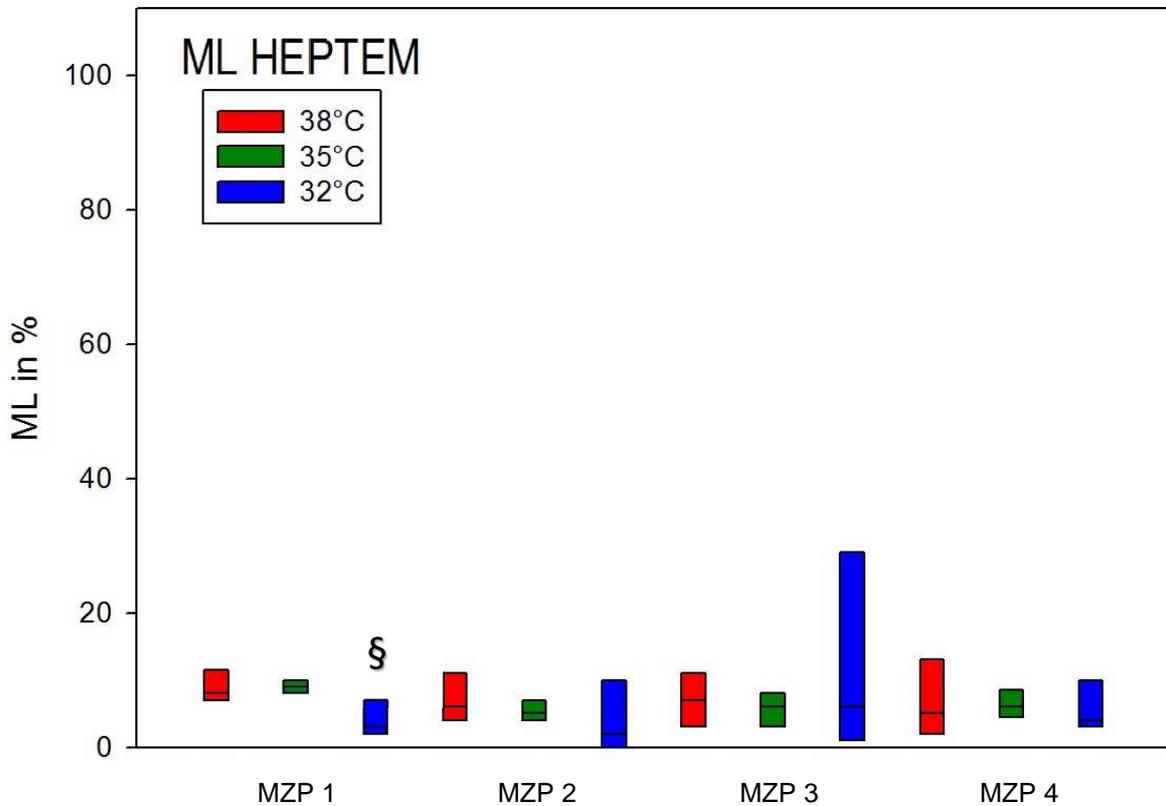


Abb. 21: Darstellung der Maximum-Lysis (ML) an den vier Messzeitpunkten bei unterschiedlicher Körpertemperatur der Versuchstiere.

Dargestellt sind jeweils der Median und die Quartilen.

$n_{38^{\circ}\text{C}} = 6$, $n_{35^{\circ}\text{C}}$ und $n_{32^{\circ}\text{C}} = 7$, % = Prozent, MZP = Messzeitpunkt, °C = Grad Celsius,

§ = $p < 0,05$ versus 38°C-Kontrollgruppe.

In Abb. 21 ist die Maximum-Lysis der einzelnen Versuchsgruppen im zeitlichen Verlauf dargestellt.

Am Messzeitpunkt 1 lag der Mittelwert in der Kontrollgruppe bei 9,0%, in der 35°C-Interventionsgruppe bei 8,7% und in der 32°C-Interventionsgruppe bei 4,51%.

Daraus ergibt sich ein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und 32°C-Interventionsgruppe ($p_{\text{MZP1}} = 0,006$).

Am Messzeitpunkt 2 zeigten die Mittelwerte der Kontrollgruppe keinen signifikanten Unterschied zwischen den drei Gruppen.

An den Messzeitpunkten 3 und 4 zeigten die Mediane ebenfalls keinen signifikanten Unterschied zwischen den drei Gruppen.

In keiner der drei Versuchsgruppen zeigten die Mediane bzw. Mittelwerte über die Zeit einen statistisch signifikanten Unterschied.

Beim Menschen wird eine maximale Lyse von $\leq 15\%$ als stabiles Gerinnsel ohne Fibrinolyse angesehen. Bezüglich des Schweineblutes wurden keine Referenzwerte gefunden. Die hier gemessenen Werte liegen alle unterhalb dieser Grenze, was gegen eine Hyperfibrinolyse spricht.

3.7 APTEM

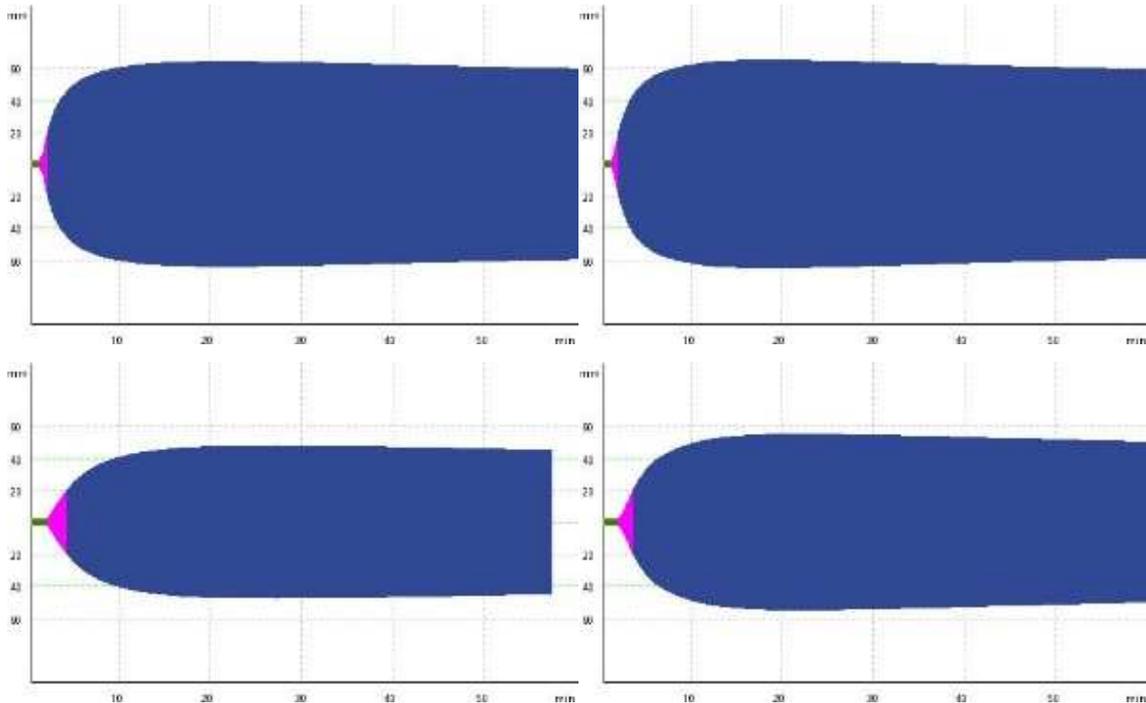


Abb. 22: typische Thrombelastogramme APTEM bei 38°C, Messzeitpunkt 1 bis 4.

Zunehmende Gerinnselfestigkeit gegenüber der Zeit aufgetragen. Eine fehlende Blutgerinnung ohne Einschränkung der Pinbeweglichkeit entspricht einer Amplitude von 0mm, bei vollständig aufgehobener Beweglichkeit des Pins wird eine Amplitude von 100mm registriert.

mm = Millimeter, min = Minute, in grün dargestellt die Clotting Time (CT),

in pink dargestellt die Clotting Formation Time (CFT), in blau dargestellt: Amplitude größer als 20 mm.

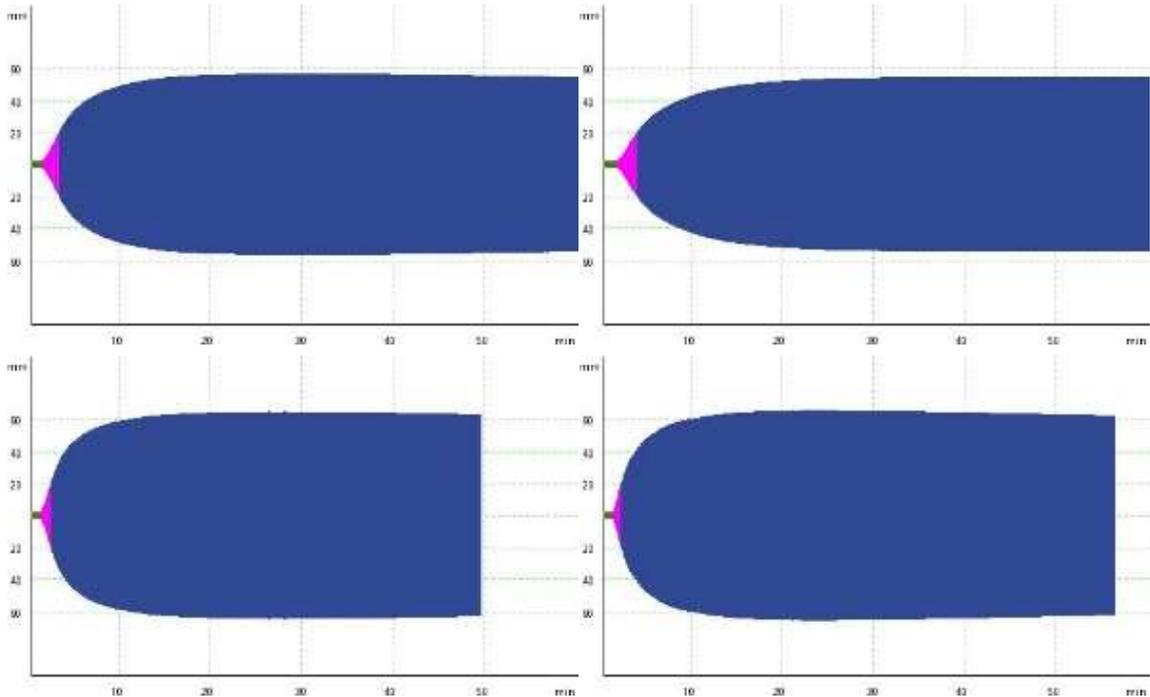


Abb. 23: typische Thrombelastogramme APTEM bei 35°C, Messzeitpunkt 1 bis 4.

Zunehmende Gerinnselfestigkeit gegenüber der Zeit aufgetragen. Eine fehlende Blutgerinnung ohne Einschränkung der Pinbeweglichkeit entspricht einer Amplitude von 0mm, bei vollständig aufgehobener Beweglichkeit des Pins wird eine Amplitude von 100mm registriert.

mm = Millimeter, min = Minute, in grün dargestellt die Clotting Time (CT), in pink dargestellt die Clotting Formation Time (CFT), in blau dargestellt: Amplitude größer als 20 mm.

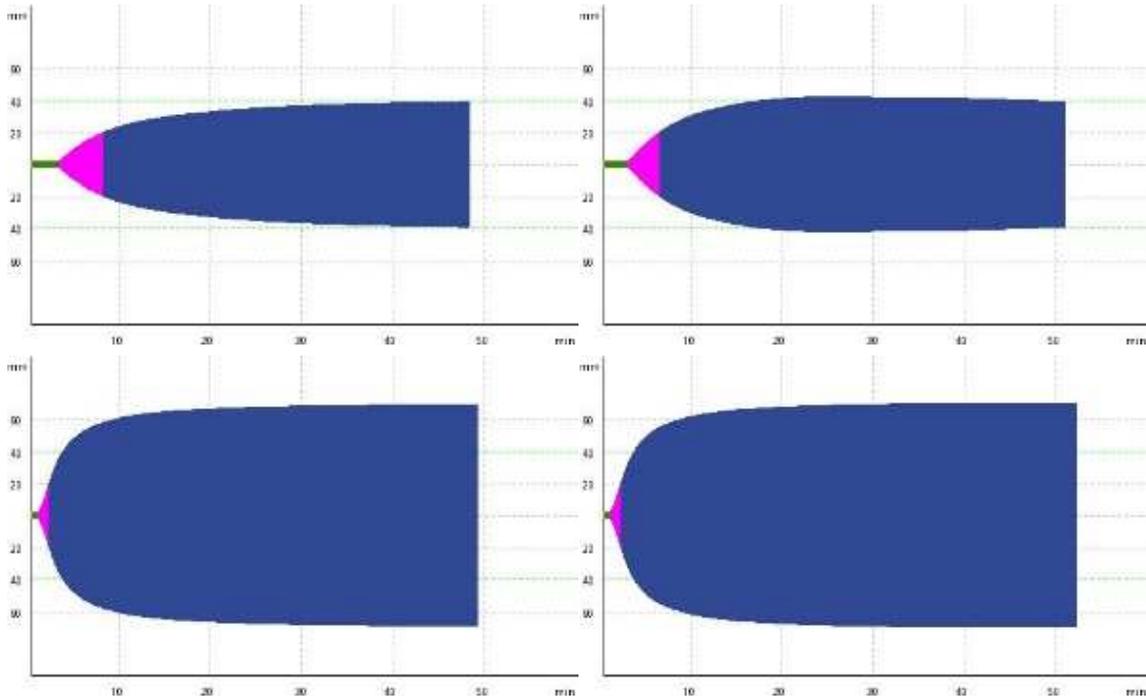


Abb. 24: typische Thrombelastogramme APTEM bei 32°C, Messzeitpunkt 1 bis 4.

Zunehmende Gerinnselfestigkeit gegenüber der Zeit aufgetragen. Eine fehlende Blutgerinnung ohne Einschränkung der Pinbeweglichkeit entspricht einer Amplitude von 0mm, bei vollständig aufgehobener Beweglichkeit des Pins wird eine Amplitude von 100mm registriert.

mm = Millimeter, min = Minute, in grün dargestellt die Clotting Time (CT),
in pink dargestellt die Clotting Formation Time (CFT), in blau dargestellt: Amplitude größer als 20 mm.

In Abb. 22 bis 24 sind typische Thrombelastogramme bei Messung des extrinsischen Teils der Gerinnungskaskade, nach Zugabe von Aprotinin, dargestellt.

3.7.1 CT APTEM

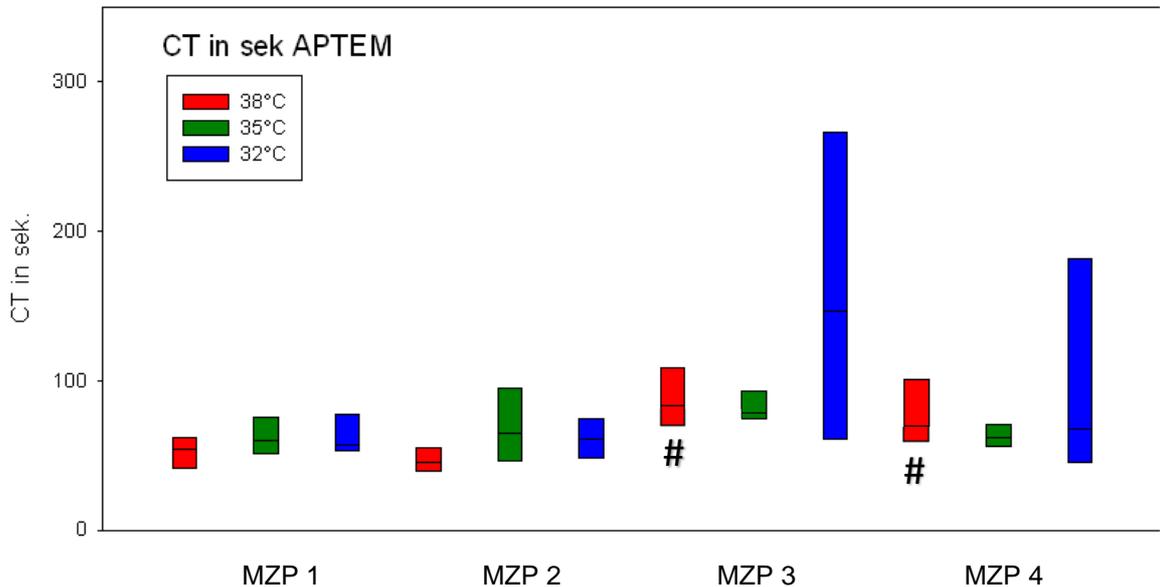


Abb. 25: Darstellung der Clotting-Time (CT) an den vier Messzeitpunkten bei unterschiedlicher Körpertemperatur der Versuchstiere.

Dargestellt sind jeweils der Median und die Quartilen.

$n_{38^{\circ}\text{C}} = 6$, $n_{35^{\circ}\text{C}}$ und $n_{32^{\circ}\text{C}} = 7$, sek. = Sekunden, MZP = Messzeitpunkt, °C = Grad Celsius, # = $p < 0,05$ versus MZP 1.

In Abb. 25 ist die Clotting-Time der einzelnen Versuchsgruppen im zeitlichen Verlauf dargestellt.

An den Messzeitpunkten 1 und 4 konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede der Mittelwerte zwischen den einzelnen Versuchsgruppen nachgewiesen werden.

An den Messzeitpunkten 2 und 3 konnten ebenfalls keine statistisch signifikanten Unterschiede der Mediane zwischen den einzelnen Versuchsgruppen nachgewiesen werden.

In der Kontrollgruppe zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied der Mittelwerte der Messzeitpunkte 3 und 4, verglichen mit dem Messzeitpunkt 1 ($p_{38^{\circ}\text{C}} = 0,002$).

In den beiden Interventionsgruppen zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied im zeitlichen Verlauf.

Im EXTEM-Test konnte lediglich an Messzeitpunkt 3 der 32°C-Interventionsgruppe eine deutlich verlängerte Clotting-Time gemessen werden. Auch im APTEM-Test fällt hier eine deutlich verlängerte Clotting-Time auf, welche sich unter Zugabe von Aprotinin nicht verkürzt. Dies bedeutet, die verlängerte Clotting-Time ist eher auf einen Faktoren-Mangel, als auf eine Hyperfibrinolyse zurück zu führen.

3.7.2 CFT APTEM

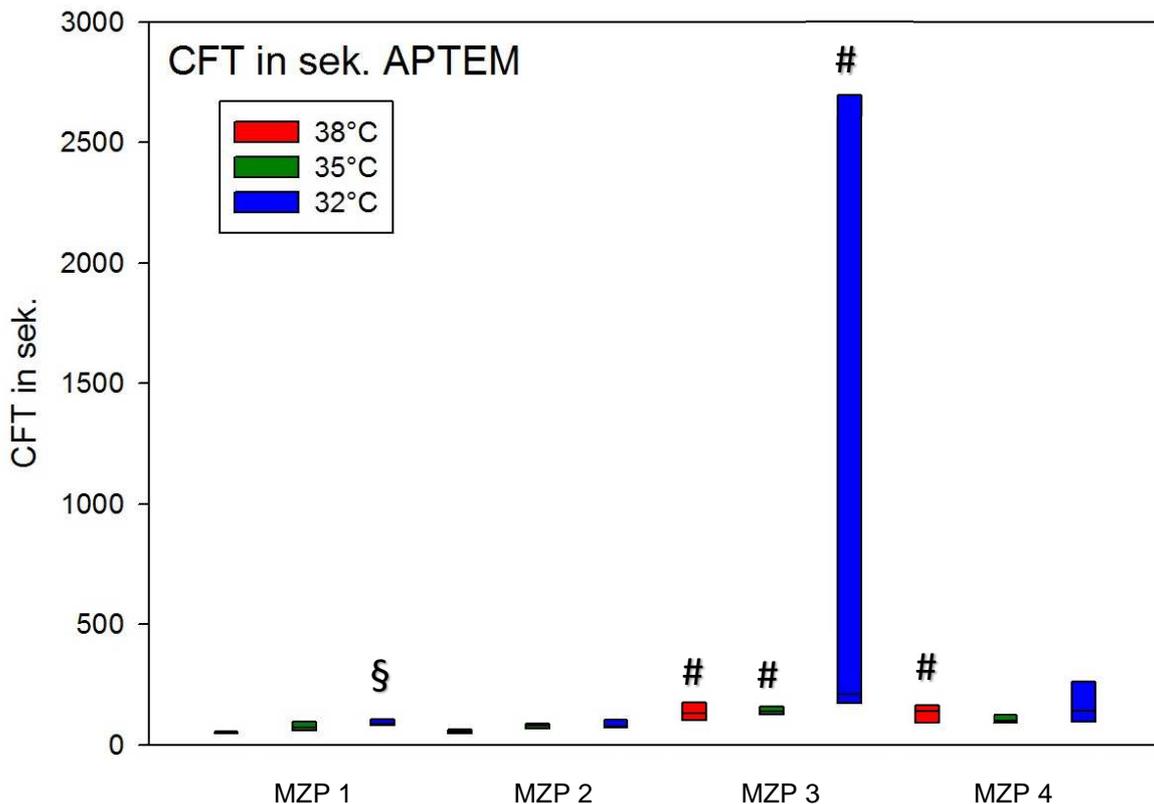


Abb. 26: Darstellung der Clotting-Formation-Time (CFT) an den vier Messzeitpunkten bei unterschiedlicher Körpertemperatur der Versuchstiere.

Dargestellt sind jeweils der Median und die Quartilen.

$n_{38^{\circ}\text{C}} = 6$, $n_{35^{\circ}\text{C}}$ und $n_{32^{\circ}\text{C}} = 7$, sek. = Sekunden, MZP = Messzeitpunkt, °C = Grad Celsius, # = $p < 0,05$ versus MZP 1, § = $p < 0,05$ versus 38°C-Kontrollgruppe.

In Abb. 26 ist die Clotting-Formation-Time der einzelnen Versuchsgruppen im zeitlichen Verlauf dargestellt.

Am Messzeitpunkt 1 lag der Median in der Kontrollgruppe bei 52,5s, in der 35°C-Interventionsgruppe bei 70,0s und in der 32°C-Interventionsgruppe bei 86,0s.

Daraus ergibt sich ein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und 32°C-Interventionsgruppe ($p_{MZP1}=0,003$).

Am Messzeitpunkt 2 zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Mittelwerten der unterschiedlichen Versuchsgruppen.

An den Messzeitpunkten 3 und 4 zeigte sich ebenfalls kein statistisch signifikanter Unterschied der Mediane zwischen den Versuchsgruppen.

In der Kontrollgruppe zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied der Mediane der Messzeitpunkte 3 und 4, verglichen mit dem Messzeitpunkt 1 ($p_{38°C} = 0,002$).

In der 35°C-Interventionsgruppe zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied des Medianes von Messzeitpunkt 3, verglichen mit dem Messzeitpunkt 1 ($p_{35°C} = 0,002$).

In der 32°C-Interventionsgruppe verhält es sich ebenso ($p_{32°C} = 0,003$).

Eine Verkürzung der Clotting-Formation-Time in APTEM gegenüber EXTEM zeigt eine verbesserte Gerinnselformung unter Hyperfibrinolyse-Therapie mit Aprotinin an. Eine solche Verbesserung der Clotting-Formation-Time ist lediglich an Messzeitpunkt 4 in der 32°C-Interventionsgruppe zu beobachten. Alle anderen Messwerte geben keine Anhaltspunkte für eine Hyperfibrinolyse.

3.7.3 MCF APTEM

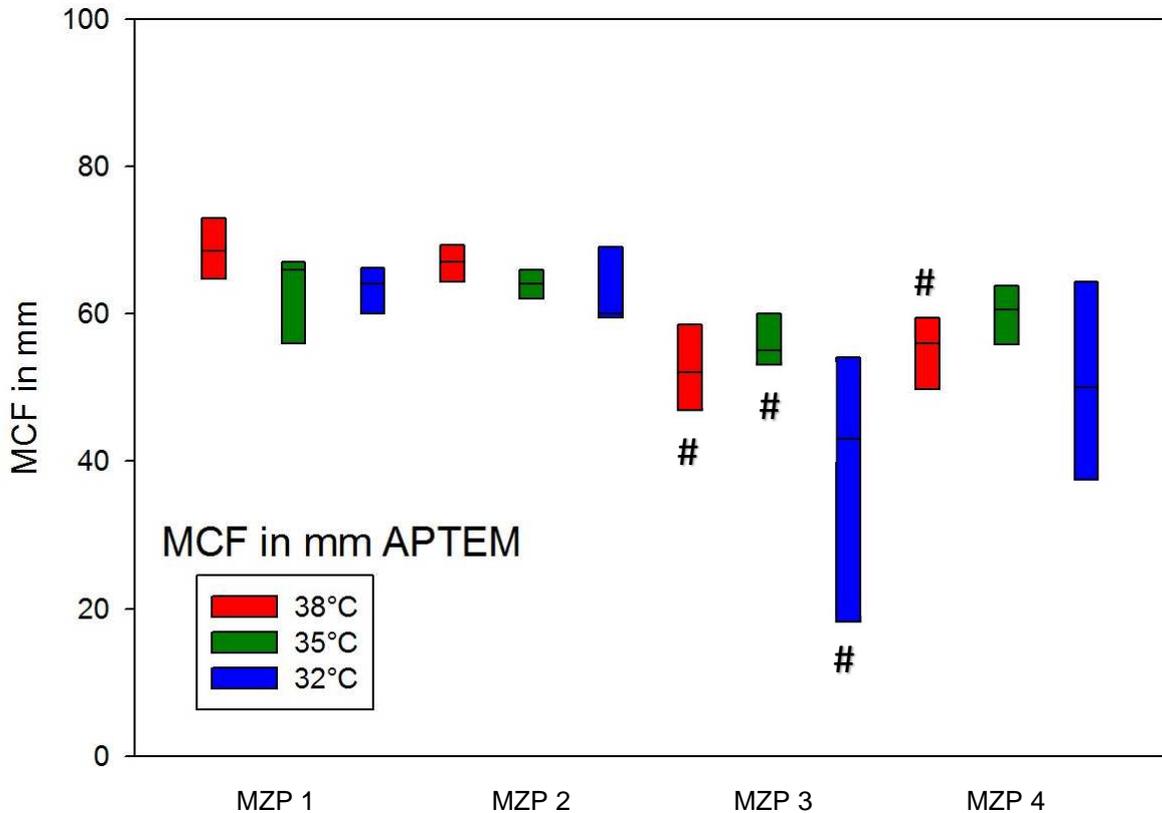


Abb. 27: Darstellung der Maximum-Clot-Firmness (MCF) an den vier Messzeitpunkten bei unterschiedlicher Körpertemperatur der Versuchstiere.

Dargestellt sind jeweils der Median und die Quartilen.

$n_{38^{\circ}\text{C}} = 6$, $n_{35^{\circ}\text{C}} = 7$ und $n_{32^{\circ}\text{C}} = 7$, mm = Millimeter, MZP = Messzeitpunkt, °C = Grad Celsius,

= $p < 0,05$ versus MZP 1.

In Abb. 27 ist die Maximum-Clot-Firmness der einzelnen Versuchsgruppen im zeitlichen Verlauf dargestellt.

An den Messzeitpunkten 1 und 2 zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Mittelwerten der unterschiedlichen Versuchsgruppen.

An den Messzeitpunkten 3 und 4 zeigte sich ebenfalls kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Medianen der unterschiedlichen Versuchsgruppen.

In der Kontrollgruppe zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied der Mittelwerte der Messzeitpunkte 3 und 4, verglichen mit dem Messzeitpunkt 1 ($p_{38^{\circ}\text{C}} < 0,001$).

In der 35°C-Interventionsgruppe zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied des Medianes von Messzeitpunkt 3, verglichen mit dem Messzeitpunkt 1 ($p_{35^{\circ}\text{C}} = 0,031$).

In der 32°C-Interventionsgruppe verhält es sich, bei Berechnung der Mittelwerte, ebenso ($p_{32^{\circ}\text{C}} = 0,007$).

Eine Vergrößerung der Maximum-Clot-Firmness in APTEM gegenüber EXTEM zeigt ebenfalls eine verbesserte Gerinnselbildung unter Hyperfibrinolyse-Therapie mit Aprotinin an. Eine solche Vergrößerung ist hier nicht zu beobachten. Somit ergeben sich auch hier keine Anhaltspunkte für eine Hyperfibrinolyse.

3.7.4 ML APTEM

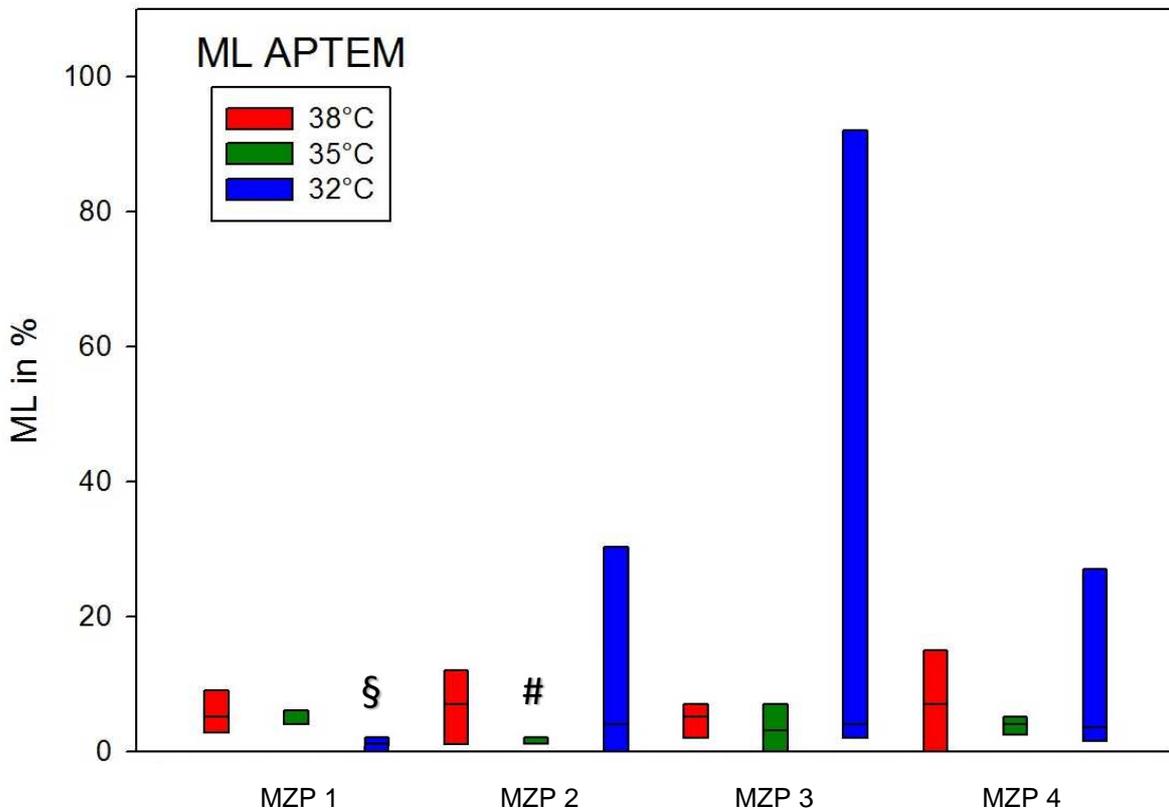


Abb. 28: Darstellung der Maximum-Lysis (ML) an den vier Messzeitpunkten bei unterschiedlicher Körpertemperatur der Versuchstiere.

Dargestellt sind jeweils der Median und die Quartilen.

$n_{38^{\circ}\text{C}} = 6$, $n_{35^{\circ}\text{C}}$ und $n_{32^{\circ}\text{C}} = 7$, % = Prozent, MZP = Messzeitpunkt, °C = Grad Celsius,

= $p < 0,05$ versus MZP 1, § = $p < 0,05$ versus 38°C-Kontrollgruppe.

In Abb. 28 ist die Maximum-Lysis der einzelnen Versuchsgruppen im zeitlichen Verlauf dargestellt.

Am Messzeitpunkt 1 lag der Mittelwert in der Kontrollgruppe bei 5,5%, in der 35°C-Interventionsgruppe bei 4,4% und in der 32°C-Interventionsgruppe bei 1,5%. Daraus ergibt sich ein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und der 32°C-Interventionsgruppe ($p_{\text{MZP1}}=0,015$).

Am Messzeitpunkt 2 zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Mittelwerten der unterschiedlichen Versuchsgruppen.

An den Messzeitpunkten 3 und 4 zeigte sich ebenfalls kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Medianen der unterschiedlichen Versuchsgruppen.

In der Kontrollgruppe zeigten die Messwerte über die Zeit keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den drei Gruppen.

In der 35°C-Interventionsgruppe veränderten sich die Messwerte über die Zeit signifikant zwischen den Messzeitpunkten 1 und 2 ($p_{35^{\circ}\text{C}}=0,050$).

In der 32°C-Interventionsgruppe zeigte sich wiederum kein statistisch signifikanter Unterschied im zeitlichen Verlauf.

Auch hier liegen die gemessenen Werte unter 15%, was ebenfalls gegen eine Hyperfibrinolyse spricht.

3.8 FIBTEM

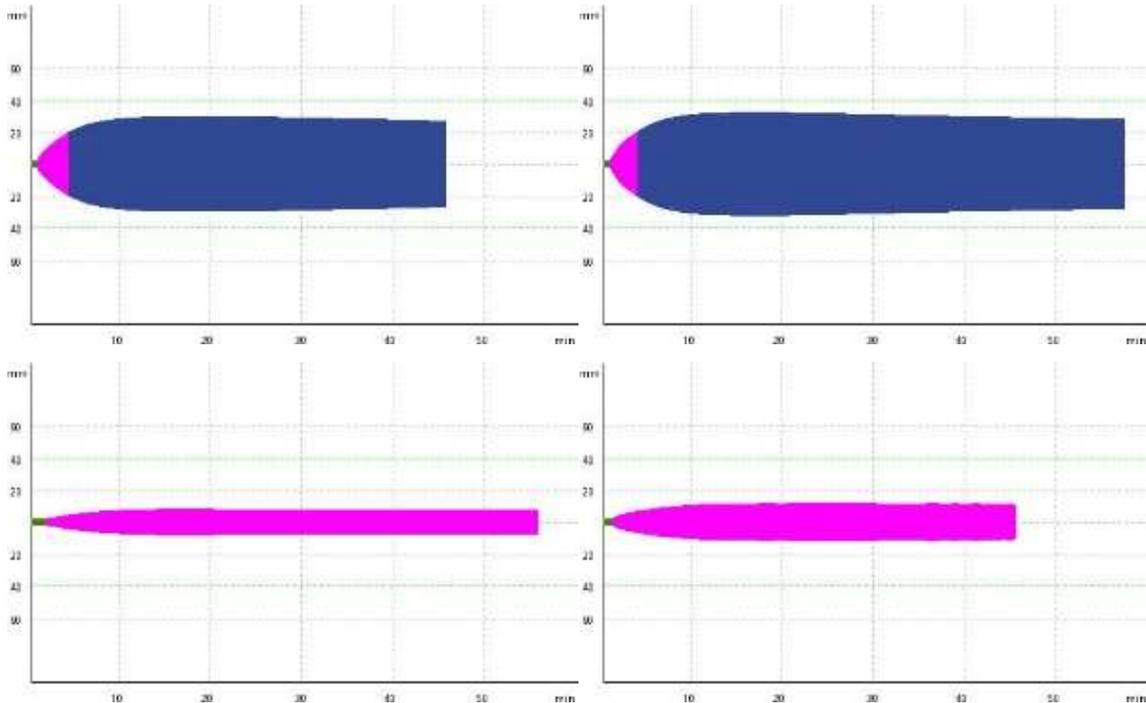


Abb. 29: typische Thrombelastogramme FIBTEM bei 38°C, Messzeitpunkt 1 bis 4.

Zunehmende Gerinnselfestigkeit gegenüber der Zeit aufgetragen. Eine fehlende Blutgerinnung ohne Einschränkung der Pinbeweglichkeit entspricht einer Amplitude von 0mm, bei vollständig aufgehobener Beweglichkeit des Pins wird eine Amplitude von 100mm registriert.

mm = Millimeter; min = Minute, in grün dargestellt die Clotting Time (CT), in pink dargestellt die Clotting Formation Time (CFT), in blau dargestellt: Amplitude größer als 20 mm.

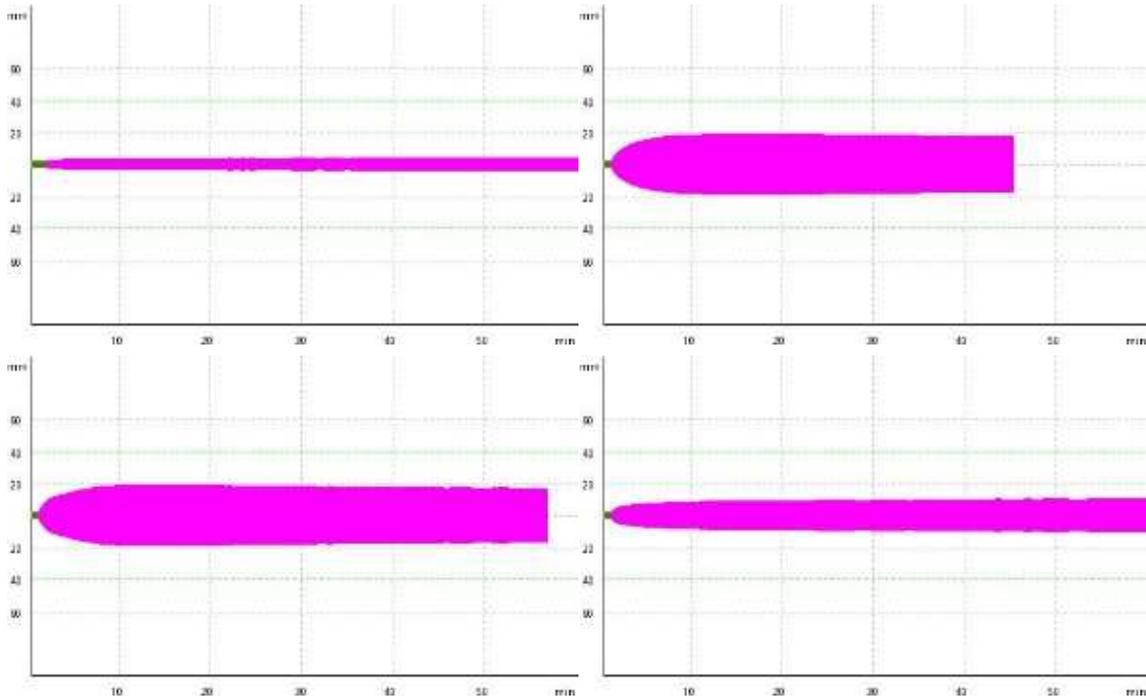


Abb. 30: typische Thrombelastogramme FIBTEM bei 35°C, Messzeitpunkt 1 bis 4.

Zunehmende Gerinnselfestigkeit gegenüber der Zeit aufgetragen. Eine fehlende Blutgerinnung ohne Einschränkung der Pinbeweglichkeit entspricht einer Amplitude von 0mm, bei vollständig aufgehobener Beweglichkeit des Pins wird eine Amplitude von 100mm registriert.

mm = Millimeter; min = Minute, in grün dargestellt die Clotting Time (CT), in pink dargestellt die Clotting Formation Time (CFT), in blau dargestellt: Amplitude größer als 20 mm.

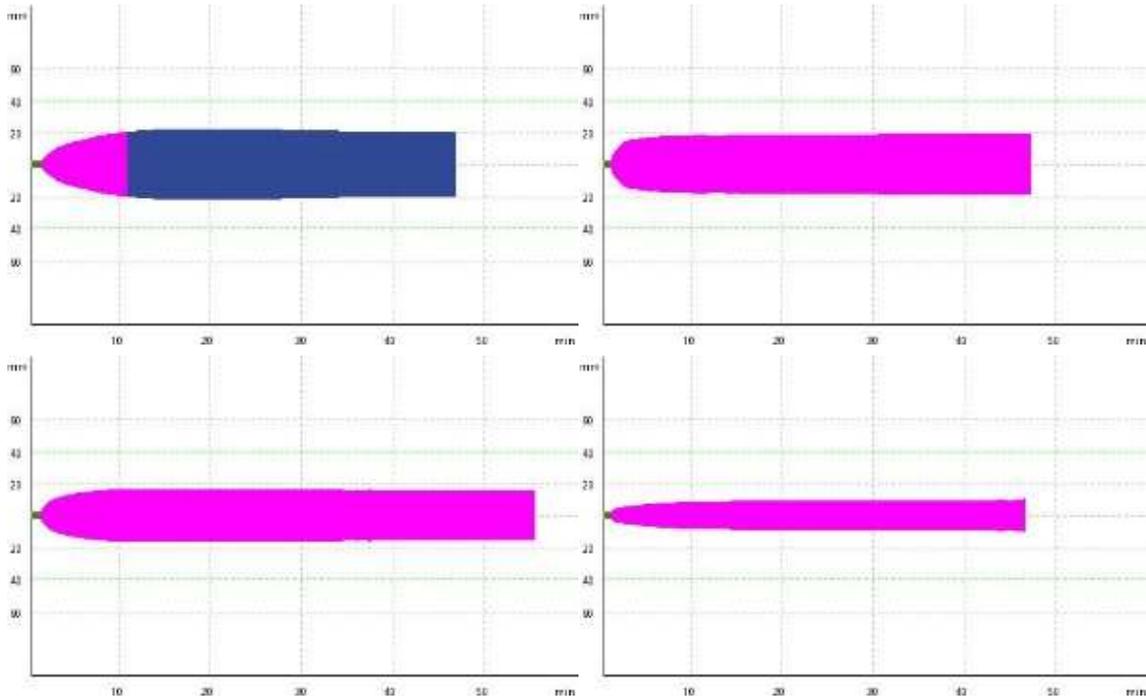


Abb. 31: typische Thrombelastogramme FIBTEM bei 32°C, Messzeitpunkt 1 bis 4.

Zunehmende Gerinnselfestigkeit gegenüber der Zeit aufgetragen. Eine fehlende Blutgerinnung ohne Einschränkung der Pinbeweglichkeit entspricht einer Amplitude von 0mm, bei vollständig aufgehobener Beweglichkeit des Pins wird eine Amplitude von 100mm registriert.

mm = Millimeter; min = Minute, in grün dargestellt die Clotting Time (CT),
in pink dargestellt die Clotting Formation Time (CFT), in blau dargestellt: Amplitude
größer als 20 mm.

In Abb. 29 bis 31 sind typische Thrombelastogramme bei Messung des extrinsischen Teils der Gerinnungskaskade, nach Zugabe von Cytochalasin D, dargestellt.

4.8.1 MCF FIBTEM

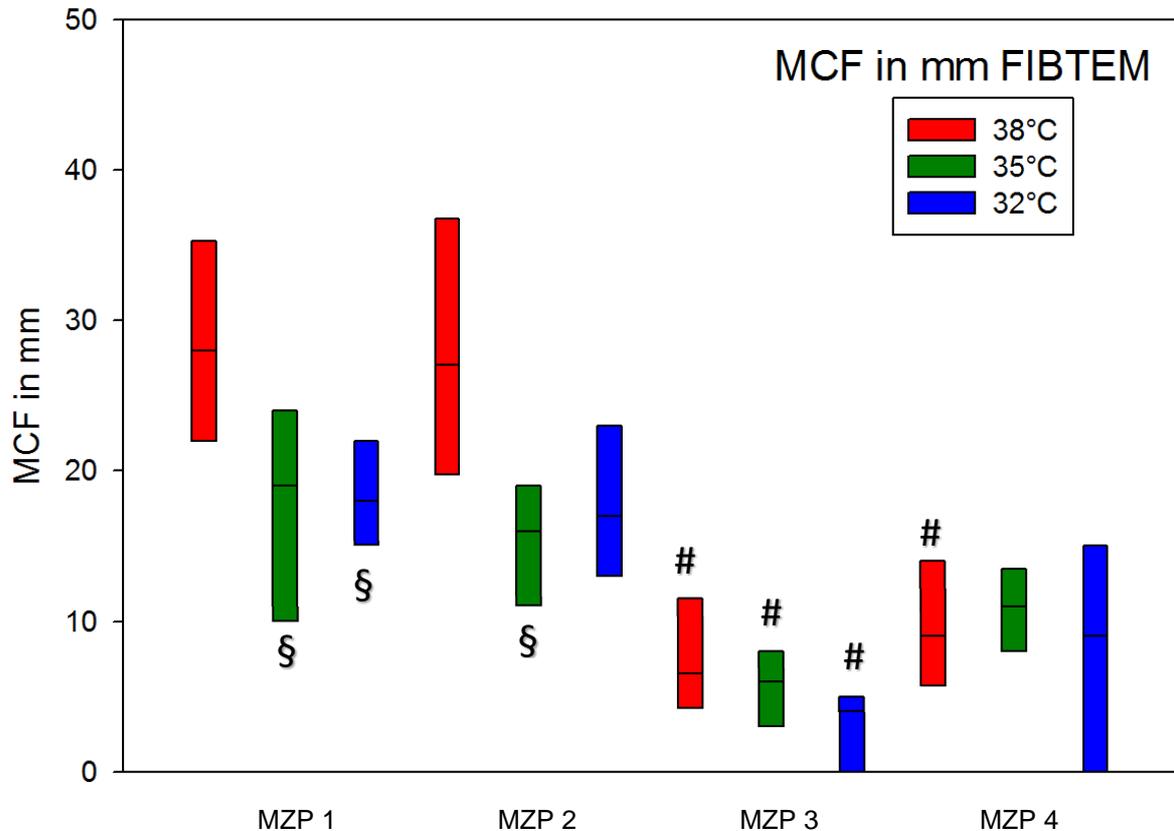


Abb. 32: Darstellung der Maximum-Clot-Firmness (MCF) an den vier Messzeitpunkten bei unterschiedlicher Körpertemperatur der Versuchstiere.

Dargestellt sind jeweils der Median und die Quartilen.

$n_{38^{\circ}\text{C}} = 6$, $n_{35^{\circ}\text{C}}$ und $n_{32^{\circ}\text{C}} = 7$, mm = Millimeter, MZP = Messzeitpunkt, °C = Grad Celsius, # = $p < 0,05$ versus MZP 1, § = $p < 0,05$ versus 38°C-Kontrollgruppe.

In Abb. 32 ist die Maximum-Clot-Firmness der einzelnen Versuchsgruppen im zeitlichen Verlauf dargestellt.

Am Messzeitpunkt 1 lag der Mittelwert in der Kontrollgruppe bei 29,5mm, in der 35°C-Interventionsgruppe bei 18,0mm und in der 32°C-Interventionsgruppe bei 17,9mm. Daraus ergibt sich ein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und der 35°C-Interventionsgruppe, sowie zwischen der Kontroll- und der 32°C-Interventionsgruppe ($p_{\text{MZP1}}=0,012$).

Am Messzeitpunkt 2 zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der 35°C- Interventionsgruppe und der Kontrollgruppe.

AM Messzeitpunkt 3 ergab sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Kontrollgruppe und den Interventionsgruppen.

Am Messzeitpunkt 4 zeigten die Mediane ebenfalls keinen signifikanten Unterschied zwischen den drei Gruppen.

In der Kontrollgruppe zeigten die Mittelwerte der Messzeitpunkte 3 und 4 einen statistisch signifikanten Unterschied gegenüber Messzeitpunkt 1 ($p_{38^{\circ}\text{C}} < 0,001$).

In der 35°C-Interventionsgruppe veränderten sich die Mediane über die Zeit ebenfalls signifikant zwischen Messzeitpunkt 1 und Messzeitpunkt 3 ($p_{35^{\circ}\text{C}} = 0,003$).

In der 32°C-Interventionsgruppe zeigte der Median von Messzeitpunkt 3 einen statistisch signifikanten Unterschied gegenüber Messzeitpunkt 1 ($p_{32^{\circ}\text{C}} < 0,001$).

Die meisten der hier bestimmten Mediane bzw. Mittelwerte liegen unterhalb des Referenzbereiches (30-71mm) (Velik-Salchner et al. 2006). Nur der Median der Kontrollgruppe des MZP 1 liegt im Referenzbereich.

4. Diskussion

In der vorliegenden Studie wurde die Blutgerinnung am Großtiermodell des Hausschweines im hämorrhagischen Schock untersucht, wobei hypotherme Tiere bei 32°C und 35°C mit normothermen Tieren bei 38°C verglichen wurden.

Im Rahmen dieser Arbeit sollte die Relevanz der therapeutischen Hypothermie sowohl in, als auch nach der Schockphase untersucht werden.

Hierbei sollte beurteilt werden, welche Auswirkungen eine therapeutische Hypothermie auf die untersuchten Parameter der Hämostase hat, und wie eine unterschiedliche Schwere der Hypothermie dies verändert. Hierzu wurden sowohl die milde Hypothermie mit 35°C, wie auch die moderate Hypothermie mit 32°C untersucht und mit Proben aus normothermen Versuchstieren (38°C) verglichen.

Durch Analyse der Parameter mittels ROTEM® wurde ein besonderes Augenmerk auf die Untersuchung der Proben bei Körperkerntemperatur des Versuchstieres gelegt, um die aktuelle Gerinnungssituation im Versuchstier möglichst exakt abbilden zu können.

Die Hauptergebnisse dieser Untersuchung können so zusammengefasst werden:

- Eine Thrombozytopenie liegt in allen Versuchsgruppen gleichermaßen vor. Diese weist keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen auf.
- Ein Faktorenmangel sowohl im intrinsischen, als auch im extrinsischen Arm der Gerinnungskaskade kann weitgehend ausgeschlossen werden. In Betracht kommt dies lediglich nach Beendigung der Retransfusionsphase in der 32°C-Interventionsgruppe.
- Die Messergebnisse in EXTEM, HEPTM und FIBTEM sprechen für eine Fibrinpolymerisationsstörung oder einen Fibrinogenmangel, besonders in der 32°C- Interventionsgruppe zu den MZP 3 und 4.

- Eine Hyperfibrinolyse neigung konnte nicht beobachtet werden.
- Die Bestimmung der Thrombin-Antithrombin-Komplexe zeigte, dass vor allem in der Kontrollgruppe nach Induktion des Hämorrhagischen Schocks, sowie nach Beendigung der Retransfusion vermehrt solche Komplexe anfallen. In der 32°C-Kontrollgruppe war dies nicht der Fall. Somit scheint in der 32°C-Interventionsgruppe signifikant weniger Disseminierte Intravasale Gerinnung statt zu finden als in der Kontrollgruppe.

4.1 Das Versuchstier und der Versuchsablauf

Das Schwein als Versuchstier wurde ausgewählt, da das Schwein anatomisch, metabolisch, sowie physiologisch und pathophysiologisch von den in Frage kommenden Spezies die größte Homologie mit dem Menschen besitzt (Velik-Salchner et al. 2006; Dodds 1982; Miura et al. 2013). Zudem ist nur am Großtiermodell eine wiederholte Blutentnahme zur Untersuchung der Organfunktionen und der Gerinnungsanalyse möglich.

Das Schweinmodell ist vorteilhaft bei der Untersuchung der Blutgerinnung, da Gemeinsamkeiten zwischen menschlichem und Schweineblut bezüglich des Blutgerinnungs- und Fibrinolyse systems vorhanden sind (Munster et al. 2002; Velik-Salchner et al. 2006).

Die Versuche wurden unter Bedingungen durchgeführt, die eine Versorgung eines Patienten mit hämorrhagischen Schock auf einer Intensivstation widerspiegeln.

Durch vorhergehende Studien verfügte die Sektion Anästhesiologische Pathophysiologie und Verfahrenstechnik bereits über langjährige Erfahrungen mit dem Großtiermodell Schwein.

Die verminderte Körperkerntemperatur wurde über einen in eine Halsvene eingeführten Kühlkatheter induziert, welcher mit kühler Flüssigkeit gespült wurde.

In anderen Versuchsgruppen wurden meist gekühlte Infusionslösungen, extern applizierte Coolpacks oder eine aufwändige Kühlung des Blutes mittels extracorporaler Verfahren verwendet (Krause et al. 2000; Holcomb et al. 1999; Alam et al. 2006). Eine Kühlung mittels extracorporaler Verfahren hätte eine Untersuchung der Gerinnungssituation verhindert. Zur Verhinderung einer Gerinnungsbildung in den Geräten müssen die Tiere voll antikoaguliert werden.

Vorteile des hier verwendeten Verfahrens sind die exakte Steuerbarkeit der Körpertemperatur des Versuchstieres, sowie die schnelle und einfache Platzierbarkeit des Kühlkatheters, womit das Studienprotokoll eingehalten wurde.

Die Absenkung der Körpertemperatur in den Interventionsgruppen wurde bereits nach der Instrumentierungsphase eingeleitet, so dass die Solltemperatur zu MZP1 der Datenerhebung bereits erreicht war. Dies widerspricht zwar einer klinischen Übertragbarkeit des Settings einer therapeutischen Hypothermie, war jedoch zur Erhebung der Ausgangsdaten notwendig um reine Kühlungseffekte von Effekten durch Kühlung und Schock trennen zu können. In der klinischen Praxis kann die Kühlung erst während oder nach dem hämorrhagischen Schock erfolgen.

Bei einer Abkühlung des Organismus unter 32°C kommt es gehäuft zu Herzrhythmusstörungen, Kreislaufinstabilität, Azidose und verminderter Blutgerinnung (Mallet 2002; Martini et al. 2008; Wolberg et al. 2004). Aus diesem Grund wurden zwei Temperaturlevel an bzw. über dieser kritischen Grenze ausgesucht.

Zur Induktion des hämorrhagischen Schocks wurde über einen Zeitraum von vier Stunden Blut entnommen, bis der arterielle Mitteldruck (MAP) bei 30 ± 3 mmHg lag. Das zuvor anhand des Körpergewichtes bestimmte zu entnehmende Blutvolumen diente dabei als Anhaltspunkt. Hier wurde als eine Mischung aus den Verfahren „blutdruckkontrolliert“ und „volumenkontrolliert“ angewendet.

Eine ausschließlich „blutdruckkontrollierte“ Hämorrhagie führt zu einer Vergleichbarkeit des Schockgrades, ist jedoch mit einem unkontrollierten

hämorrhagischen Schock in der Praxis weniger vergleichbar (Lomas-Niera et al. 2005).

Bei einer „volumenkontrollierten“ Hämorrhagie wird das zu entnehmende Blutvolumen anhand des Körpergewichtes des Versuchstieres berechnet. Im Schock können Blutdruckwerte nicht reproduziert werden, was die Vergleichbarkeit der Ergebnisse schwieriger macht. Dieser Versuchsaufbau kommt der Situation in der Praxis aber näher (Lomas-Niera et al. 2005).

Durch die Mischung der beiden Schockmodelle konnte das Ausmaß des Schocks bei allen Versuchstieren gut reproduziert werden. In der Praxis tritt der hämorrhagische Schock jedoch meist über eine sehr kurze Zeitspanne ein. Eine Kompensation ist hierbei für den Organismus deutlich schwieriger möglich. Dies stellt einen Nachteil des Settings dar.

Der angestrebte arterielle Mitteldruck in der Schockphase wurde in allen Versuchsgruppen erreicht. Zu den anderen Messzeitpunkten war zum Erreichen stabiler Mitteldruckwerte, ähnlich denen vor der Schockphase, eine Kreislaufunterstützung durch Noradrenalin notwendig.

4.2 Hämodynamische und metabolische Parameter

Zur Beurteilung der Hämodynamik wurde Herzfrequenz, mittlerer arterieller Blutdruck (MAP), Herzzeitvolumen (HZV) und zentraler Venendruck (ZVD) gemessen.

In allen Versuchsgruppen zeigten sich ähnliche Veränderungen zu den einzelnen Messzeitpunkten. Die an Messzeitpunkt 2 gemessenen Veränderungen, wie die ansteigende Herzfrequenz, der abfallende arterielle Mitteldruck, der abfallende zentrale Venendruck und das abfallende Herzzeitvolumen sind durch die Kompensationsmechanismen in der Schockphase gut erklärbar (Larsen 2013). Der arterielle Mitteldruck von etwa 30mmHg war durch das Versuchsprotokoll angestrebt.

Für die metabolischen Parameter wurde an allen Messzeitpunkten eine arterielle Blutgasanalyse durchgeführt. Betrachtet wurden die Parameter pH, Base Excess (BE), Laktat, paCO_2 , und Horovitz-Index.

Am Messzeitpunkt 2 zeigte sich in allen Versuchsgruppen eine Laktatazidose. Diese war jedoch in der 32°C-Interventionsgruppe signifikant am geringsten ausgeprägt und wurde von den am wenigsten negativen Base Excess-Werten begleitet. Bei hypoxämischem Übergang von aerober zu anaerober Glycolyse steigen die Laktatspiegel an. Durch Reduktion des Metabolismus bei der Hypothermie vermindert sich der Sauerstoffverbrauch der Gewebe, es muss weniger anaerobe Glycolyse betrieben werden, die ATP-Depots bleiben länger bestehen (Polderman 2009). Diese Umstände tragen zum besseren Outcome, beispielsweise bei cardiochirurgischen Eingriffen, bei. Der Unterschied zu Traumatpatienten liegt darin, dass die Hypothermie auf insuffizienter Wärmeproduktion unter Verbrauch von ATP beruht (Seekamp et al. 1999) und erklärt möglicherweise die Unterschiede im Outcome zwischen therapeutischer und akzidenteller Hypothermie.

Im weiteren Verlauf des Versuches bleiben die Base Excess-Werte der 32°C-Interventionsgruppe deutlich negativ, während sich die Werte der 35°C-Interventionsgruppe und der Kontrollgruppe wieder dem Ausgangsniveau nähern. Ebenso bleibt der pH der 32°C-Interventionsgruppe im azidoten Bereich, während sich die pH-Werte der anderen beiden Gruppen am Messzeitpunkt 4 im normalen Bereich befinden. Auch der Laktatspiegel der 32°C-Interventionsgruppe ist am Messzeitpunkt 4 wieder auf Ausgangsniveau gesunken. Hier scheint eine andere, wahrscheinlich fixe Säure die verstärkte metabolische Azidose zu verursachen.

4.3 Thrombozyten

Die gemessene Anzahl der Thrombozyten im EDTA-Blut war an allen Messzeitpunkten vermindert, im Sinne einer Thrombozytopenie. Dabei zeigte sich keine statistische Signifikanz der 32°C- und 35°C-Interventionsgruppen gegenüber der Kontrollgruppe. Da der erste Messzeitpunkt nach der chirurgischen Präparation

lag, wo bereits mit Infusionslösungen gearbeitet wurde und eine chirurgische Instrumentierung stattgefunden hat, ist die Thrombozytopenie gut durch bereits erfolgte Verdünnung erklärbar. Trauma und fortlaufende Flüssigkeitsgabe führten auch in anderen Arbeiten zu einer Verminderung der Gerinnungsparameter (Mohr et al. 2013). Ein signifikanter Abfall der Thrombozyten in den hypothermen Gruppen ist nicht zu finden, was sich ebenfalls mit Ergebnissen aus der Literatur deckt (Mohr et al. 2013).

Ausgangswerte vor Beginn der Versuche wurden nicht erhoben, da die Kühlung der Tiere erst nach der chirurgischen Präparation stattgefunden hat. So wäre lediglich eine Bestimmung der Parameter bei Normothermie beim narkotisierten Versuchstier möglich gewesen. Da es sich um gesunde Versuchstiere handelte, wurden hier keine Abweichungen von der Norm erwartet.

Die Thrombozytenfunktion wurde hier nicht untersucht, obwohl in der Literatur Berichte zur Thrombozytendysfunktion bei Hypothermie zu finden sind (Michelson et al. 1999; Valeri et al. 1992; Watts et al. 1998a). Andere Studien berichten über keine Unterschiede zwischen der Thrombozytenfunktion bei Normothermie und Hypothermie (Mohr et al. 2013). Hier ist keine Aussage zum Ausmaß einer möglichen Thrombozytenfunktionsstörung zu treffen.

4.4 Thrombin-Antithrombin-Komplex (TAT)

Thrombin-Antithrombin-Komplexe sind ein Reaktionsprodukt aus Thrombin und Antithrombin, wobei beide Reaktionspartner ihre Aktivität verlieren. Die Menge der TAT kann folglich als Maß für die Thrombin-Aktivierung herangezogen werden und ist beispielsweise bei Disseminierter Intravasaler Gerinnung (DIC), Akuter Koagulopathie bei Trauma (ACT), Thrombose- und Embolieereignissen oder bei Sepsis erhöht (Zhang et al. 2008).

Thrombin spielt eine zentrale Rolle im Gerinnungsprozess. Es katalysiert Fibrinogen in Fibrin (Mann et al. 2003a).

Am Messzeitpunkt 1, vor Induktion des hämorrhagischen Schocks, zeigen sich keine signifikanten Unterschiede beim Thrombin-Antithrombin-Komplex, auch nicht bei den gekühlten Tieren. Dass die bestimmten Werte meist über den Referenzwerten für Schweineblut (Velik-Salchner et al. 2006) liegen, auch bereits am Messzeitpunkt 1, kann durch die bereits erfolgte chirurgische Präparation mit Induktion der Blutgerinnung bei großem Gewebetrauma erklärt werden.

Im Verlauf kam es zu einem deutlichen Anstieg der TAT, sowohl in der 35°C-Interventionsgruppe, als auch in der Kontrollgruppe. In der Kontrollgruppe fiel dieser Anstieg signifikant aus. Auffällig war vor allem die deutlich geringeren Werte in der 32°C-Interventionsgruppe.

Nach Initiierung des hämorrhagischen Schocks scheint es, abgesehen von der 32°C-Interventionsgruppe zu einer Thrombin-Generierung zu kommen, passend zu einer „Akuten Koagulopathie bei Trauma“ (ACT). Hierbei findet eine Thrombin-Generierung durch im Blut zirkulierende prokoagulatorische Faktoren statt, was zu Gerinnselformung überall im vaskulären System, nicht nur an Blutungsquellen, führt. Diese prokoagulatorischen Faktoren werden durch Zellen ausgeschüttet, die beispielsweise durch Schock und Hypoxämie geschädigt wurden. (Dunbar u. Chandler 2009).

Trauma-Patienten haben verminderte Mengen an Plasmaproteinen aufgrund von Blutverlust, Verbrauch und Hämodilution (Yuan et al. 2007). Verminderte Mengen an Antithrombin verlangsamen die Inaktivierung von Thrombin und verlängern so die Phase, in der Thrombin immer weiter aktiviert wird (Butenas et al. 1999).

Martini et al. beschrieben in ihrer Arbeit, dass Hypothermie die Thrombin-Generierung beeinträchtigt (Martini et al. 2005). Nach Betrachtung der eigenen Ergebnisse konnte ebenfalls gezeigt werden, dass es bei einer Hypothermie mit 32°C zur verminderten Entstehung der Thrombin-Antithrombin-Komplexe kommt, während die gemessenen Spiegel bei 35°C keine signifikanten Unterschiede gegenüber denen der Kontrollgruppe zeigen.

4.5 Thrombelastometrie

Klinische Standard-Gerinnungstests wie INR und PTT zeigen im hämorrhagischen Schock und in der Hypothermie oft normwertige Ergebnisse, obwohl es signifikante Veränderungen in der Gerinnungsfunktion gibt (Rohrer u. Natale 1992; Reed et al. 1992). Die Blutgerinnungskaskade basiert auf enzymatischen Reaktionen. Der Temperatureffekt auf enzymkatalysierte Reaktionen wird Q₁₀-Regel genannt: pro 10K Temperaturabfall laufen die Reaktionen nur noch halb so schnell ab (Segel 1993). Diese Regel scheint jedoch für komplexe Reaktionen mit mehreren beteiligten Enzymen nicht zu gelten (Martini et al. 2007).

Um die Gerinnungssituation, auch der gekühlten Tiere, möglichst genau abbilden zu können, verwendeten wir zur Untersuchung die Thrombelastometrie. Die Messung fand immer bei Körpertemperatur der Tiere statt, um Effekte, beispielsweise durch nachträgliche Erwärmung, ausschließen zu können.

4.5.1 EXTEM

Gemessen wird hier die extrinsische Aktivierung der Gerinnungskaskade. Der Test zeigt sich weitgehend unempfindlich auf Heparin und detektiert Faktorenmängel, Fibrinpolymerisation, Fibrinogenkonzentration, Hyperfibrinolyse und den Thrombozytenbeitrag zur Gerinnselfestigkeit.

Bezüglich der Clotting-Time (CT) kann lediglich an Messzeitpunkt 3 in der 32°C-Interventionsgruppe gegenüber der Kontrollgruppe eine signifikante Verlängerung, sowie ein Anstieg über den Referenzwert (Velik-Salchner et al. 2006) festgestellt werden. Martini et al publizieren beispielsweise eine Verlängerung der CT allein durch Hypothermie, während Hämorrhagie und Hämodilution diese nicht veränderten (Martini et al. 2007). Ein Faktorenmangel, bzw. ein verlangsamtes Ablaufen der extrinsischen Gerinnungskaskade von Gewebsthromboplastin über Faktor VII kann hier nicht generell bei allen hypothermen Messungen gesehen

werden. Vielmehr scheint es nach Retransfusion in der 32°C-Interventionsgruppe eine Veränderung in der extrinsischen Aktivierung der Gerinnungskaskade zu bewirken. Die Ursache hierfür bleibt unklar.

Der Blutverlust von 40% im hämorrhagischen Schock scheint beim Schwein nicht auszureichen um die Menge der Gerinnungsfaktoren so weit zu reduzieren, dass dies Auswirkungen auf die CT hat. Diese liegen in reichlicher Menge im Blut vor (Martini et al. 2007). Beim Menschen müssen die Faktoren V, VII, X und XI sogar auf 1% bis 5% der Normalwerte abgesunken sein um eine 50%ige Veränderung der Gerinnungsfähigkeit zu bewirken (Al Dieri et al. 2002). In klinischen Situationen mit unkontrollierten Blutungen kann dies aber durchaus eine Rolle spielen.

Besonders nach Retransfusion des Blutes (MZP 3 und 4) scheint es zu einer Verschlechterung der Gerinnungssituation zu kommen. Dies zeigt sich in einer Verlängerung der Clotting-Formation-Time (CFT) und einer Verminderung der Maximum-Clot-Firmness (MCF). Sowohl CFT, als auch MCF sind vor allem von der Thrombozytenmenge und -funktion, dem Faktor XIII und vom Fibrin abhängig. Die Thrombozytenmenge ist keinen besonderen Schwankungen unterworfen (siehe 4.3).

Unter Berücksichtigung des FIBTEM-Tests lässt sich ein Fibrinogen-Mangel oder eine Fibrinogen-Dysfunktion ableiten. Dies ließ sich nicht nur, jedoch am ausgeprägtesten, bei der 32°C Interventionsgruppe darstellen.

Eine Fibrinolyse kann in keiner der Gruppen detektiert werden. Gleiche Ergebnisse fanden sich auch in anderen Studien (Martini et al. 2005; Watts et al. 1998b; Kurrek, M., Reed, R. 1987).

Im Gegensatz zu anderen Studien (Mohr et al. 2013) wurden die Proben, wie oben bereits beschrieben, bei Körpertemperatur des Versuchstieres gemessen. Dies scheint relevante Unterschiede in den Versuchsergebnissen zu produzieren: Bei Messung der Gerinnungsparameter hypothermer Probanden mittels ROTEM® bei 37°C findet sich keine Veränderung gegenüber den normothermen Versuchstieren (Mohr et al. 2013; George et al. 2010). Allerdings zeigen sich deutliche Unterschiede wenn ROTEM® bei der aktuellen Körpertemperatur des

Versuchstieres gemessen wird. Die CFT zeigte sich hier bei hypothermen Verhältnissen verlängert (Mohr et al. 2013; Heinius et al. 2002; Martini et al. 2008)

4.5.2 HEPTEM

Im Gegensatz zu INTEM wird hier die intrinsische Aktivierung der Gerinnungskaskade unter Ausschluss eines Heparineffektes gemessen. Dies war nötig, da die Katheter und 3-Wege-Hähne mit Heparin-Lösung gespült wurden. Es können ebenfalls Faktorenmängel, Hyperfibrinolyse, der Thrombozytenbeitrag zur Gerinnselfestigkeit und die Fibrinpolymerisation detektiert werden. Milde Faktorenmängel, Defekte der Primärhämostase, Thrombozytenfunktionsstörungen und bestimmte Thrombozyteninhibitoren (z.B. ASS) können jedoch nur eingeschränkt detektiert werden.

Analog zu den EXTEM-Tests zeigte sich hier bei der Clotting-Time (CT) ebenfalls an Messzeitpunkt 3 in der 32°C-Interventionsgruppe ein Anstieg über den Referenzwert (Velik-Salchner et al. 2006). Auch hier kann kein generell verlangsamtes Ablaufen der intrinsischen Gerinnungskaskade oder ein Faktorenmangel bei allen hypothermen Messungen beobachtet werden.

Im Gegensatz zu anderen Studien (Martini et al. 2008) können keine unterschiedlichen Auswirkungen der Hypothermie auf den extrinsischen und intrinsischen Weg der Gerinnungskaskade beobachtet werden.

Auch beim HEPTEM-Test zeigte sich nach Retransfusion an den Messzeitpunkten 3 und 4 eine Verlängerung der Clotting-Formation-Time (CFT) und eine Verminderung der Maximum-Clot-Firmness (MCF). Beide Messparameter betreffen, wie oben beschrieben, die gemeinsame Endstrecke der Gerinnungskaskade und stimmen weitgehend mit den Messungen aus EXTEM überein.

Eine Lyse des Gerinnsels ist hier ebenfalls nicht zu beobachten.

4.5.3 APTEM

Gemessen wird hier die extrinsische Aktivierung der Gerinnung unter Zugabe eines Fibrinolyseinhibitors (Aprotinin).

Als frühes Zeichen einer Hyperfibrinolyse kann eine Normalisierung der CT, CFT und des α -Winkels im APTEM gegenüber dem EXTEM gesehen werden.

Eine Verlängerung der Clotting-Time konnte im EXTEM lediglich an Messzeitpunkt 3 der 32°C-Interventionsgruppe beobachtet werden. Diese CT verkürzt sich auch unter Zugabe von Aprotinin nicht. Somit kann eher von einem Faktorenmangel bzw. einer Dysfunktion ausgegangen werden, als von einer Hyperfibrinolyse.

Eine Fibrinolyse kann, wie oben bereits beschrieben, in keiner der Gruppen detektiert werden. Gleiche Ergebnisse fanden sich auch in anderen Studien (Martini et al. 2005; Watts et al. 1998b; Kurrek, M., Reed, R. 1987).

4.5.4 FIBTEM

Gemessen wird hier ebenfalls die extrinsische Aktivierung der Gerinnung. Durch Zumischung von Cytochalasin D werden die Thrombozyten pharmakologisch gehemmt, das entstehende Thrombelastogramm entspricht der plasmatischen Komponente der Gerinnselfestigkeit.

Eine Verminderung der Maximum-Clot-Firmness (MCF) konnte im EXTEM besonders zu den Messzeitpunkten 3 und 4 in der 32°C-Interventionsgruppe gesehen werden. Insgesamt erreichten jedoch nur die Gerinnsel der Kontrollgruppe an den Messzeitpunkten 1 und 2 normale Festigkeit.

Nach Hemmung der Thrombozyten im FIBTEM zeigen sich entsprechende Werte, die auf einen Fibrinogenmangel, oder auf eine Polymerisationsstörung schließen lassen.

Passend hierzu zeigte sich bei der Anzahl der Thrombozyten im Versuchsblut eine Thrombozytopenie ohne statistische Signifikanz (siehe 4.3).

Diese Ergebnisse decken sich mit Ergebnissen aus anderen Studien. Hypothermie und Azidose beeinflussen sowohl Fibrinpolymerisation und -metabolismus, als auch die Synthese des Fibrinogens. Bei größeren Blutverlusten erreicht Fibrinogen schneller ein kritisch niedriges Level als andere prokoagulatorische Faktoren oder die Thrombozyten (Fries u. Martini 2010; Martini 2009).

Problematisch bei der Verwertung der Ergebnisse von FIBTEM ist jedoch die Tatsache, dass der FIBTEM-Test für Schweineblut nur eingeschränkt verwertbar ist. Die Arbeitsgruppe um C. Velik-Salchner untersuchte verschiedene Konzentrationen der Fibtem-Reagenz und erhielt verschiedene Referenzbereiche für die Maximum-Clot-Firmness (MCF) bei FIBTEM mit Schweineblut. Da Schweineblut im Gegensatz zu menschlichem Blut bei steigenden Cytochalasinkonzentrationen kein Plateau aufweist, können die gemessenen FIBTEM-Werte einen methodischen Fehler aufweisen (Velik-Salchner et al. 2006).

4.6 Schlussfolgerung und Grenzen des Versuchs

Derzeit gibt es noch keine abschließende Datenlage zur therapeutischen Hypothermie bei hämorrhagischem Schock. Einerseits konnten protektive Effekte der induzierten Hypothermie gezeigt werden (Alam et al. 2004), in anderen Studien kam es zu Problemen mit Gerinnungsstörungen und Azidose (Krause et al. 2000; Martini et al. 2008). Meist wurden die Tiere hierbei jedoch mit gekühlten Infusionslösungen, extern applizierten Coolpacks oder per extracorporaler Verfahren auf die zu erzielenden Temperaturen gebracht (Krause et al. 2000; Holcomb et al. 1999; Alam et al. 2006).

In den unterschiedlichen Studien werden die Tiere zudem auf sehr unterschiedliche Zieltemperaturen abgekühlt. Aufgrund der zunehmenden Komplikationen bei schwerer Hypothermie unter 32°C, wurden hier Temperaturen im Bereich der milden und moderaten Hypothermie gewählt. Jedoch kann nicht ausgeschlossen

werden, dass bei anderen Zieltemperaturen oberhalb dieser 32°C Messergebnisse auftreten, die von den hier gemachten Erfahrungen differieren.

Auch wurde die Kühlung der Versuchstiere bereits vor dem hämorrhagischen Schock durchgeführt, um Ausgangsdaten vor Induktion des hämorrhagischen Schocks bei der jeweiligen Körperkerntemperatur zu sammeln. Dies entspricht nicht der klinischen Versorgungssituation.

Die Messung mittels ROTEM® erfolgte in dieser Studie bei aktueller Körperkerntemperatur des Versuchstieres. Es zeigten sich deutliche Unterschiede in den Ergebnissen, wenn die Proben jeweils bei Körpertemperatur des Versuchstieres und bei Standardtemperatur gemessen wurden (Mohr et al. 2013; Heinius et al. 2002; Martini et al. 2008).

Schweine haben ein hyperkoagulableres Blutgerinnungssystem als der Mensch (Velik-Salchner et al. 2006), wodurch die Ergebnisse nicht direkt auf den Menschen übertragen werden können. Trotzdem ist das Schweinmodell ein üblicherweise eingesetztes Modell (Krause et al. 2000; Alam et al. 2004). Zudem sind die dargestellten Referenzwerte im Schweineblut bei Normothermie gemessen. Für hypothermes Schweineblut gibt es keine Referenzwerte.

Die kleine Anzahl an Versuchstieren pro Gruppe muss ebenfalls kritisch bedacht werden.

Vor allem die Problematik der Hyperfibrinolyse bei Hypothermie konnte in dieser Untersuchung nicht beobachtet werden. Zudem scheint bei moderater Hypothermie weniger Thrombin im Sinne einer „Akuten Koagulopathie bei Trauma“ (ACT) generiert zu werden.

Der absolute oder relative Mangel an Fibrin muss bei Induktion der Hypothermie jedoch beachtet und entsprechend therapiert werden.

Die Ergebnisse des Versuchs sollten zur besseren Übertragbarkeit in klinische Situationen im Verlauf in einer Folgestudie überprüft werden. Hier wäre zu untersuchen, ob ebenfalls weniger ACT auftritt, wenn die Induktion der Hypothermie während oder nach dem hämorrhagischen Schock erfolgt und wie sich die Fibrinolyse verhält.

5. Zusammenfassung

Der hämorrhagische Schock ist eine der Haupttodesursachen beim Trauma. Hier fehlt die adäquate Gewebsperfusion, es kommt häufig zu akzidenteller Hypothermie und der Patient leidet unter Blutgerinnungsstörungen unterschiedlicher Art.

In verschiedenen Bereichen der Medizin wird therapeutische Hypothermie bereits erfolgreich eingesetzt, um die Ischämiezeit wichtiger Organe zu verlängern und so das Outcome zu verbessern.

In der vorliegenden Studie sollte untersucht werden, wie sich eine therapeutische Hypothermie unterschiedlicher Ausprägung auf die Blutgerinnung der Schweine im hämorrhagischen Schock auswirkt.

Hierzu wurden die Versuchstiere randomisiert in eine Kontrollgruppe (38°C), sowie eine Hypothermiegruppe bei 32°C und eine Hypothermiegruppe bei 35°C zugeteilt.

Zur Abbildung der metabolischen Situation wurden Blutgasanalysen durchgeführt. Hier zeigte sich am Ende der Schockphase eine Laktatazidose, die in der 32°C-Interventionsgruppe signifikant geringer war.

Als globaler Gerinnungstest wurde eine ROTEM[®]-Analyse bei Körpertemperatur des Versuchstieres durchgeführt. Zudem erfolgte die Bestimmung der Thrombozytenzahl, sowie die Menge der Thrombin-Antithrombin-Komplexe.

Es zeigte sich eine Thrombozytopenie, die zu allen Messzeitpunkten in allen Versuchsgruppe ohne signifikante Unterschiede vorhanden war.

Bei der Messung der Thrombin-Antithrombin-Komplexe als Maß für die Thrombin-Aktivierung konnte gezeigt werden, dass in der 32°C-Interventionsgruppe weniger solcher Komplexe gebildet wurden, was für ein niedrigeres Maß an „Akuter Koagulopathie bei Trauma“ (ACT) spricht.

In der ROTEM[®]-Analyse wurde kein Mangel, beziehungsweise keine Funktionsstörung der Gerinnungsfaktoren, mit Ausnahme von Fibrinogen, detektiert. Eine Fibrinpolymerisationsstörung oder ein Mangel an Fibrinogen konnte

vor allem in der 32°C- Interventionsgruppe am Ende der Retransfusionsphase, sowie am Ende der Beobachtungsphase gemessen werden.

Eine Hyperfibrinolyse, wie sie häufig bei hypothermen, azidoten Traumapatienten beobachtet wird, konnte hier in keiner der Versuchsgruppen gesehen werden.

Insgesamt konnte lediglich bezüglich dem Fibrinogen ein negativer Effekt der stärkeren Hypothermie beim hämorrhagischen Schock des Schweins gesehen werden, wohingegen die verminderte Bildung der Thrombin-Antithrombin-Komplexe positiv zu bewerten ist.

Einschränkend ist zu sagen, dass die Hypothermie bereits vor der Hämorrhagie induziert wurde, was die Übertragbarkeit in den Klinischen Alltag schwierig macht. Zudem haben Schweine ein hyperkoagulableres Blutgerinnungssystem als Menschen und die untersuchten Schweine waren jung und gesund.

6. Literaturverzeichnis

1. Aird W C: Coagulation. *Critical Care Medicine*, 33: S485-7 (2005)
2. Al Dieri R, Peyvandi F, Santagostino E, Giansily M, Mannucci P M, Schved J F, Beguin S, Hemker H C: The thrombogram in rare inherited coagulation disorders: its relation to clinical bleeding. *Thrombosis & Haemostasis*, 88: 576-582 (2002)
3. Alam H B, Casas F, Chen Z, Smith W A, Reeves A, Velmahos G, de Moya M, Rhee P: Development and testing of portable pump for the induction of profound hypothermia in a Swine model of lethal vascular injuries. *Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care*, 61: 1321-1329 (2006)
4. Alam H B, Chen Z, Honma K, Koustova E, Querol R I, Jaskille A, Inocencio R, Ariaban N, Toruno K, Nadel A, Rhee P: The rate of induction of hypothermic arrest determines the outcome in a Swine model of lethal hemorrhage. *Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care*, 57: 961-969 (2004)
5. Bardenheuer M, Obertacke U, Waydhas C, Nast-Kolb D: [Epidemiology of the severely injured patient. A prospective assessment of preclinical and clinical management. AG Polytrauma of DGU]. *Unfallchirurg*, 103: 355-363 (2000)
6. Bergman R, Braber A, Adriaanse M A, van Vugt R, Tjan D H, van Zanten A R: Haemodynamic consequences of mild therapeutic hypothermia after cardiac arrest. *European journal of anaesthesiology*, 27: 383-387 (2010)
7. Brummel K E, Paradis S G, Butenas S, Mann K G: Thrombin functions during tissue factor-induced blood coagulation. *Blood*, 100: 148-152 (2002)
8. Butenas S, van't Veer C, Mann K G: "Normal" thrombin generation. *Blood*, 94: 2169-2178 (1999)
9. Chapman M P, Moore E E, Moore H B, Gonzalez E, Morton A P, Chandler J, Fleming C D, Ghasabyan A, Silliman C C, Banerjee A, Sauaia A: The "Death Diamond": Rapid thrombelastography identifies lethal hyperfibrinolysis. *The Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 79: 925-929 (2015)
10. Colman R W, Schmaier A H: Contact system: a vascular biology modulator with anticoagulant, profibrinolytic, antiadhesive, and proinflammatory attributes. *Blood*, 90: 3819-3843 (1997)
11. Corredor C, Arulkumaran N, Ball J, Grounds M R, Hamilton M A, Rhodes A, Cecconi M: Hemodynamic optimization in severe trauma: a systematic

- review and meta-analysis. *Revista Brasileira de Terapia Intensiva*, 26: 397-406 (2014)
12. Cosgriff N, Moore EE, Sauaia A, Kenny-Moynihan M, Burch JM, Galloway B: Predicting life-threatening coagulopathy in the massively transfused trauma patient: hypothermia and acidosis revisited. *Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care*, 42: 857-861 (1997)
 13. Courtney J M, Forbes C D: Thrombosis on foreign surfaces. *British medical bulletin*, 50: 966-981 (1994)
 14. D J: , Die Gerinnungskaskade. 01.01.2007, 2007-last update [01.2013, 2013]
 15. Davie E W, Fujikawa K, Kisiel W: The coagulation cascade: initiation, maintenance, and regulation. *Biochemistry*, 30: 10363-10370 (1991)
 16. Davis J W, Kaups K L, Parks S N: Base deficit is superior to pH in evaluating clearance of acidosis after traumatic shock. *Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care*, 44: 114-118 (1998)
 17. de Bruijne E L, Gils A, Rijken D C, de Maat M P, Guimaraes A H, Poldermans D, Declerck P J, Leebeek F W: High thrombin activatable fibrinolysis inhibitor levels are associated with an increased risk of premature peripheral arterial disease. *Thrombosis research*, 127: 254-258 (2011)
 18. Dirkmann D, Gorlinger K, Dusse F, Kottenberg E, Peters J: Early thromboelastometric variables reliably predict maximum clot firmness in patients undergoing cardiac surgery: a step towards earlier decision making. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, 57: 594-603 (2013)
 19. Dodds W J: The pig model for biomedical research. *Federation proceedings*, 41: 247-256 (1982)
 20. Dunbar N M, Chandler W L: Thrombin generation in trauma patients. *Transfusion*, 49: 2652-2660 (2009)
 21. Edmunds L H, Jr: Blood-surface interactions during cardiopulmonary bypass. *Journal of cardiac surgery*, 8: 404-410 (1993)
 22. Fries D, Martini W Z: Role of fibrinogen in trauma-induced coagulopathy. *British journal of anaesthesia*, 105: 116-121 (2010)
 23. Garrioch M A: The body's response to blood loss. *Vox sanguinis*, 87: 74-76 (2004)

24. George M E, Mulier K E, Beilman G J: Hypothermia is associated with improved outcomes in a porcine model of hemorrhagic shock. *Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care*, 68: 662-668 (2010)
25. Gonzalez Balverde M, Ramirez Lizardo E J, Cardona Munoz E G, Totsuka Sutto S E, Garcia Benavides L: [Prognostic value of the lethal triad among patients with multiple trauma]. *Revista medica de Chile*, 141: 1420-1426 (2013)
26. Hartert H: Blutgerinnungsstudien mit der Thrombelastographie, einem neuen Untersuchungsverfahren. *Klinische Wochenschrift*, 257-260 (1948)
27. Heinius G, Wladis A, Hahn R G, Kjellstrom B T: Induced hypothermia and rewarming after hemorrhagic shock. *Journal of Surgical Research*, 108: 7-13 (2002)
28. Holcomb J B, Pusateri A E, Harris R A, Reid T J, Beall L D, Hess J R, MacPhee M J: Dry fibrin sealant dressings reduce blood loss, resuscitation volume, and improve survival in hypothermic coagulopathic swine with grade V liver injuries. *Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care*, 47: 233-240 (1999)
29. Holzer M, Martens P, Roine R, Sterz F, Eisenburger P, Havel C, Kofler J, Oschatz E, Rohrbach K, Scheinecker W, Schorkhuber W, Behringer W, Zeiner A, Valentin A, De Meyer M, Takunen O, Tiainen M, Hachimi-Idrissi S, Huyghens L, Fischer M, Walger P, Bartsch A, Foedisch M, Cerchiari E, Bonizzoli M, Pagni E, Laggner A N, Kaff A, Schneider B, Mullner M: Mild therapeutic hypothermia to improve the neurologic outcome after cardiac arrest. *New England Journal of Medicine*, 346: 549-556 (2002)
30. Holzer M, Mullner M, Sterz F, Robak O, Kliegel A, Losert H, Sodeck G, Uray T, Zeiner A, Laggner A N: Efficacy and safety of endovascular cooling after cardiac arrest: cohort study and Bayesian approach. *Stroke*, 37: 1792-1797 (2006)
31. Howells G A, Hernandez D A, Olt S L, Tepe N A, Vogel M: Blunt injury of the ascending aorta and aortic arch: repair with hypothermic circulatory arrest. *Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care*, 44: 716-722 (1998)
32. Kaplan A P, Joseph K, Shibayama Y, Reddigari S, Ghebrehiwet B, Silverberg M: The intrinsic coagulation/kinin-forming cascade: assembly in plasma and cell surfaces in inflammation. *Advances in Immunology*, 66: 225-272 (1997a)
33. Kaplan A P, Joseph K, Shibayama Y, Reddigari S, Ghebrehiwet B, Silverberg M: The intrinsic coagulation/kinin-forming cascade: assembly in plasma and cell surfaces in inflammation. *Advances in Immunology*, 66: 225-272 (1997b)

34. Kirkpatrick A W, Chun R, Brown R, Simons R K: Hypothermia and the trauma patient. *Canadian Journal of Surgery*, 42: 333-343 (1999)
35. Krause K R, Howells G A, Buhs C L, Hernandez D A, Bair H, Schuster M, Bendick P J: Hypothermia-induced coagulopathy during hemorrhagic shock. *American Surgeon*, 66: 348-354 (2000)
36. Kurrek, M., Reed, R.: Effect of hypothermia on enzymatic activity of thrombin and plasmin. 38: 221-223 (1987)
37. Larsen R: *Anästhesie*. 10. Auflage: 890-895 (2013)
38. Lier H, Krep H, Schochl H: [Coagulation management in the treatment of multiple trauma]. *Anaesthesist*, 58: 1010-1026 (2009)
39. Lomas-Niera J L, Perl M, Chung C S, Ayala A: Shock and hemorrhage: an overview of animal models. *Shock*, 24: 33-39 (2005)
40. Luna G K, Maier R V, Pavlin E G, Anardi D, Copass M K, Oreskovich M R: Incidence and effect of hypothermia in seriously injured patients. *Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care*, 27: 1014-1018 (1987)
41. Lwaleed B A, Bass P S: Tissue factor pathway inhibitor: structure, biology and involvement in disease. *Journal of Pathology*, 208: 327-339 (2006)
42. Maerz L L, Davis K A, Rosenbaum S H: Trauma. *International anesthesiology clinics*, 47: 25-36 (2009)
43. Mallet M L: Pathophysiology of accidental hypothermia. *QJM - Monthly Journal of the Association of Physicians*, 95: 775-785 (2002)
44. Mann K G, Brummel K, Butenas S: What is all that thrombin for? *Journal of Thrombosis & Haemostasis*, 1: 1504-1514 (2003a)
45. Mann K G, Butenas S, Brummel K: The dynamics of thrombin formation. *Arteriosclerosis, Thrombosis & Vascular Biology*, 23: 17-25 (2003b)
46. Martini W Z: Fibrinogen metabolic responses to trauma. *Scandinavian Journal of Trauma, Resuscitation & Emergency Medicine*, 17: 2 (2009)
47. Martini W Z: The effects of hypothermia on fibrinogen metabolism and coagulation function in swine. *Metabolism: Clinical & Experimental*, 56: 214-221 (2007)
48. Martini W Z, Cortez D S, Dubick M A, Park M S, Holcomb J B: Thrombelastography is better than PT, aPTT, and activated clotting time in detecting clinically relevant clotting abnormalities after hypothermia, hemorrhagic shock and resuscitation in pigs. *Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care*, 65: 535-543 (2008)

49. Martini W Z, Dubick M A, Wade C E, Holcomb J B: Evaluation of tris-hydroxymethylaminomethane on reversing coagulation abnormalities caused by acidosis in pigs. *Critical Care Medicine*, 35: 1568-1574 (2007)
50. Martini W Z, Pusateri A E, Uscilowicz J M, Delgado A V, Holcomb J B: Independent contributions of hypothermia and acidosis to coagulopathy in swine. *Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care*, 58: 1002-1009 (2005)
51. Michelson A D, Barnard M R, Khuri S F, Rohrer M J, MacGregor H, Valeri C R: The effects of aspirin and hypothermia on platelet function in vivo. *British journal of haematology*, 104: 64-68 (1999)
52. Mikhail J: The trauma triad of death: hypothermia, acidosis, and coagulopathy. *AACN Clinical Issues*, 10: 85-94 (1999)
53. Miura N, Kawaguchi H, Nagasato T, Yamada T, Ito T, Izumi H, Shameshima H, Miyoshi N, Tanimoto A, Maruyama I: Coagulation activity and white thrombus formation in the microminipig. *In Vivo*, 27: 357-361 (2013)
54. Mohr J, Ruchholtz S, Hildebrand F, Flohe S, Frink M, Witte I, Weuster M, Frohlich M, van Griensven M, Keibl C, Mommsen P: Induced hypothermia does not impair coagulation system in a swine multiple trauma model. *The Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 74: 1014-1020 (2013)
55. Mommsen P, Andruszkow H, Fromke C, Zeckey C, Wagner U, van Griensven M, Frink M, Krettek C, Hildebrand F: Effects of accidental hypothermia on posttraumatic complications and outcome in multiple trauma patients. *Injury*, 44: 86-90 (2013)
56. Monroe D M, Hoffman M: What does it take to make the perfect clot? *Arteriosclerosis, Thrombosis & Vascular Biology*, 26: 41-48 (2006)
57. Munster A M, Olsen A K, Bladbjerg E M: Usefulness of human coagulation and fibrinolysis assays in domestic pigs. *Comparative medicine*, 52: 39-43 (2002)
58. Norris L A: Blood coagulation. *Best Practice & Research in Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 17: 369-383 (2003)
59. Pichon N, Amiel J B, Francois B, Dugard A, Etchecopar C, Vignon P: Efficacy of and tolerance to mild induced hypothermia after out-of-hospital cardiac arrest using an endovascular cooling system. *Critical Care (London, England)*, 11: R71 (2007)
60. Polderman K H: Mechanisms of action, physiological effects, and complications of hypothermia. *Critical Care Medicine*, 37: S186-202 (2009)

61. Reed R L, 2nd, Johnson T D, Hudson J D, Fischer R P: The disparity between hypothermic coagulopathy and clotting studies. *Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care*, 33: 465-470 (1992)
62. Rohrer M J, Natale A M: Effect of hypothermia on the coagulation cascade. *Critical Care Medicine*, 20: 1402-1405 (1992)
63. Rugeri L, Levrat A, David J S, Delecroix E, Floccard B, Gros A, Allaouchiche B, Negrier C: Diagnosis of early coagulation abnormalities in trauma patients by rotation thrombelastography. *Journal of Thrombosis & Haemostasis*, 5: 289-295 (2007)
64. Salooja N, Perry D J: Thrombelastography. *Blood Coagulation & Fibrinolysis*, 12: 327-337 (2001)
65. Sanders A B: Therapeutic hypothermia after cardiac arrest. *Current opinion in critical care*, 12: 213-217 (2006)
66. Santry H P, Alam H B: Fluid resuscitation: past, present, and the future. *Shock*, 33: 229-241 (2010)
67. Schadinger S L, Lin J H, Garand M, Boffa M B: Secretion and antifibrinolytic function of thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor from human platelets. *Journal of Thrombosis & Haemostasis*, 8: 2523-2529 (2010)
68. Schaller J, Gerber S S: The plasmin-antiplasmin system: structural and functional aspects. *Cellular & Molecular Life Sciences*, 68: 785-801 (2011)
69. Schenone M, Furie B C, Furie B: The blood coagulation cascade. *Current opinion in hematology*, 11: 272-277 (2004)
70. Seekamp A, van Griensven M, Hildebrandt F, Wahlers T, Tscherne H: Adenosine-triphosphate in trauma-related and elective hypothermia. *Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care*, 47: 673-683 (1999)
71. Segel I: *Enzyme Kinetics: Behavior and Analysis of Rapid Equilibrium and Steady-State Enzyme Systems*. (1993)
72. Segers M J, Diephuis J C, van Kesteren R G, van der Werken C: Hypothermia in trauma patients. *Unfallchirurg*, 101: 742-749 (1998)
73. Silbernagl S, Despopoulos A, Gay R, Rothenburger A: *Taschenatlas Physiologie*. 7, voll überarb u erw Aufl, Thieme, Stuttgart u.a., (2007)
74. Sorensen E R, Lorme T B, Heath D: Thromboelastography: a means to transfusion reduction. *Nursing management*, 36: 27-33 (2005)
75. Spoerke N J, Van P Y, Differding J A, Zink K A, Cho S D, Muller P J, Karahan Z A, Sondeen J L, Holcomb J B, Schreiber M A: Red blood cells

- accelerate the onset of clot formation in polytrauma and hemorrhagic shock. *Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care*, 69: 1054-1059 (2010)
76. Stassen J M, Arnout J, Deckmyn H: The hemostatic system. *Current medicinal chemistry*, 11: 2245-2260 (2004)
 77. Statistisches Bundesamt W: *Gesundheit; Todesursachen in Deutschland 2014*. (2015)
 78. Steffel J, Luscher T F, Tanner F C: Tissue factor in cardiovascular diseases: molecular mechanisms and clinical implications. *Circulation*, 113: 722-731 (2006)
 79. Triplett D A: Coagulation and bleeding disorders: review and update. *Clinical chemistry*, 46: 1260-1269 (2000)
 80. Tuman K J, McCarthy R J, Djuric M, Rizzo V, Ivankovich A D: Evaluation of coagulation during cardiopulmonary bypass with a heparinase-modified thromboelastographic assay. *Journal of Cardiothoracic & Vascular Anesthesia*, 8: 144-149 (1994)
 81. Valeri C R, Khabbaz K, Khuri S F, Marquardt C, Ragno G, Feingold H, Gray A D, Axford T: Effect of skin temperature on platelet function in patients undergoing extracorporeal bypass. *Journal of Thoracic & Cardiovascular Surgery*, 104: 108-116 (1992)
 82. Velik-Salchner C, Schnurer C, Fries D, Mussigang P R, Moser P L, Streif W, Kolbitsch C, Lorenz I H: Normal values for thrombelastography (ROTEM) and selected coagulation parameters in porcine blood. *Thrombosis research*, 117: 597-602 (2006)
 83. Watts D D, Trask A, Soeken K, Perdue P, Dols S, Kaufmann C: Hypothermic coagulopathy in trauma: effect of varying levels of hypothermia on enzyme speed, platelet function, and fibrinolytic activity. *Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care*, 44: 846-854 (1998a)
 84. Watts D D, Trask A, Soeken K, Perdue P, Dols S M T, Kaufmann C: Hypothermic Coagulopathy in Trauma: Effect of Varying Levels of Hypothermia on Enzyme Speed, Platelet Function, and Fibrinolytic Activity. *Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care*, 44: 846-854 (1998b)
 85. Whalen J, Tuman K J: Monitoring hemostasis. *International anesthesiology clinics*, 34: 195-213 (1996)
 86. Wolberg A S, Meng Z H, Monroe D M, 3rd, Hoffman M: A systematic evaluation of the effect of temperature on coagulation enzyme activity and platelet function. *Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care*, 56: 1221-1228 (2004)

87. Wolf C G, Gliwitzky B, Wentzensen A: [Standardised primary care of multiple trauma patients. Prehospital Trauma Life Support und Advanced Trauma Life Support]. Unfallchirurg, 112: 846-853 (2009)
88. Yuan S, Ferrell C, Chandler W L: Comparing the prothrombin time INR versus the APTT to evaluate the coagulopathy of acute trauma. Thrombosis research, 120: 29-37 (2007)
89. Zhang Y, Hu Y, Guo T, Wei W, Zhang X: Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor in preeclampsia and gestational hypertension throughout the gestation. Journal of Huazhong University of Science and Technology. Medical Sciences, 28: 140-143 (2008)

Danksagung

Ich bedanke mich ganz herzlich bei Prof. Dr. med. Dr. med. h.c. Peter Radermacher, der mir die Promotion in seinem Institut ermöglicht hat. Während der gesamten Zeit bis zur Fertigstellung meiner Dissertation wurde ich stets sehr gut betreut.

Frau Tanja Schulz, sowie allen anderen Mitarbeitern des Instituts für Anästhesiologische Pathophysiologie und Verfahrensentwicklung (APV) danke ich sehr für die Einarbeitung im Labor, sowie für die Unterstützung während meiner Promotionszeit.

Elisabeth Ilgner und Karoline Granse danke ich für die gute Zusammenarbeit und gegenseitige Unterstützung und Motivation während der Versuchszeit.

Meiner Familie danke ich für ihre moralische Unterstützung.

Lebenslauf

Der Lebenslauf wurde aus Gründen des Datenschutzes entfernt.