

**Korrelation zwischen Heparinkonzentration im Blut und
ACT-Messung während pädiatrischen Herzeingriffen unter
Einsatz der Herz-Lungen-Maschine. Validierung einer
neuen Heparin-Messmethode**

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Morsi Haj
Aus Ramallah/Palästina
Gießen 2014

Aus der Zusammenarbeit der

Klinik für Herz-, Kinderherz- und Gefäßchirurgie
Direktor: Herr Prof. Dr. med. Andreas Böning,
Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH,
Standort: Gießen

und

Institut für Biophysik, Goethe Universität Frankfurt am Main
Direktor: Herr Prof. Dr. Werner Mäntele

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Andreas Böning
 2. Gutachter: Prof. Dr. med. Dietmar Schranz
- Tag der Disputation: 04.08.2015

Meiner geliebten Familie

gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG.....	7
1.1	Heparin als Substanz.....	7
1.1.1	Vorkommen.....	7
1.1.2	Aufbau.....	8
1.1.3	Formen.....	9
1.1.4	Vor- und Nachteile der verschiedenen Heparine.....	10
1.1.5	Gewinnung.....	10
1.1.6	Gerinnungskaskade und Wirkungsmechanismus von Heparin.....	11
1.1.7	Pharmakokinetik und Metabolismus.....	14
1.1.8	Klinische Einflussfaktoren auf die Heparinwirkung.....	15
1.2	Einsatz von Heparin für die Antikoagulation.....	16
1.2.1	Dosierung.....	17
1.2.2	Messung der Wirksamkeit von Heparin.....	18
1.2.3	Notwendigkeit für die Herz-Lungen-Maschine.....	19
1.2.4	Antagonisierung von Heparin (Protamin).....	22
1.3	Alternativen zu Heparin beim Einsatz der HLM:.....	23
1.3.1	Danaparoid.....	24
1.3.2	Lepirudin, Argatroban.....	24
1.4	Probleme bei der Messung von Heparinwirksamkeit.....	24
1.5	Verfahren zur Messung des Heparinspiegels und Wirksamkeit.....	26
1.5.1	Activated Clotting Time (ACT).....	26
1.5.2	Heparin Management System (HEPCON® HMS).....	27
1.5.3	Thromboelastometrie bzw. Thromboelastographie.....	28
1.6	Fragestellung.....	29
2	MATERIAL UND METHODEN.....	30
2.1	Meßmethodik.....	30
2.2	Laborgeräte.....	30
2.2.1	Aufbau des neuen Heparinmessgerätes.....	30
2.2.2	Messprinzip der neuen Methode.....	31
2.2.3	Computersoftware.....	32
2.2.4	Zentrifuge.....	33
2.2.5	weitere Materialien.....	33
2.3	Methode.....	33
2.3.1	ACT Messung.....	33
2.3.2	Ablauf der Messung.....	34

2.4	Patientendaten	35
2.4.1	Ein- und Ausschlusskriterien	37
2.4.2	Aufklärung der Patienten	37
2.4.3	durchgeführte Operationen	37
2.4.4	präoperativ erhobene Patientendaten	39
3	ERGEBNISSE	40
3.1	Intra- und Postoperativ erhobene Patientendaten	40
3.2	Postoperative Nachblutung und Gabe von Blutprodukten sowie Flüssigkeitsbilanz	42
3.3	Perioperative Daten der Antikoagulation	43
3.4	Übereinstimmung von Heparinkonzentrationen und ACT-Zeiten (synchrone Kurven)	45
3.5	Asynchroner (disjunkter) Kurvenverlauf zwischen ACT und Heparin	52
3.5.1	Asynchroner Kurvenverlauf mit „fehlerhaften“ ACT-Zeiten (<i>ACT > 1000 Sek.</i>)	52
3.5.2	Asynchroner Kurvenverlauf mit messbaren ACT-Zeiten (<i>ACT < 1000 Sek.</i>)	63
3.6	Korrelation zwischen Langer OP-Zeit und Blutung	68
4	DISKUSSION	70
4.1	Blutungskomplikationen nach herzchirurgischen Operationen	71
4.2	Präoperative Daten	71
4.3	Ergebnisse der Studie	72
4.4	pädiatrische Ergebnisse der LiSA-Methode im Vergleich zu den Erwachsenen	74
4.5	Heparin-Halbwertszeit	75
4.6	Zusammenhang zwischen langer OP-Zeit und Blutung	76
4.7	Genauigkeit und Handhabung der neuen Meßmethode	77
4.8	ist die ACT-Methode ein sicheres Verfahren?	78
4.9	Vorteile der LiSA-Methode im Vergleich zu Hepcon®	79
4.10	Limitation der Studie und Ausblick	81
5	ZUSAMMENFASSUNG	83
6	SUMMARY	85
7	LITERATURVERZEICHNIS	86
8	ANHANG	98
8.1	Patienteninformation und Aufklärung	98
8.2	Studienposter DGHTG-Tagung Freiburg 14.02.2012:	101

9	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	102
10	TABELLENVERZEICHNIS	103
11	ERKLÄRUNG.....	104
12	DANKSAGUNG	105
13	LEBENS LAUF.....	106

1 Einleitung

Heparin stellt in der modernen Medizin allgemein und in der Herzchirurgie speziell ein wichtiges unverzichtbares Medikament dar, das ein sehr großes Einsatzgebiet bietet. Mit der Entdeckung von Heparin 1916 durch McLean, einen Medizinstudenten aus Baltimore [1], waren die Voraussetzungen zum Einsatz der extrakorporalen Zirkulation (EKZ) geschaffen. Heparin ermöglicht die Zirkulation des Blutes über nicht-endotheliale Fremdoberflächen wie z.B. die Herz-Lungen-Maschine (HLM) ohne dass die Gerinnungskaskade in Gang gesetzt wird [2]. Der Grund hierfür liegt in den ausgeprägten Antikoagulationseigenschaften des Heparins, die die Gerinnungsfaktoren schon nach kurzer Zeit hemmen und somit die Bildung von Thromben verhindern [3]. Die entstehende starke Blutverdünnung während der Herzchirurgischen Eingriffe darf niemals unkontrolliert außer Acht gelassen werden. Auf der anderen Seite kann bei niedrigen Dosen von Heparin keine volle Wirksamkeit erreicht werden und so ist die Thrombenbildungsgefahr mit nachfolgendem Ausfall der HLM groß, was fatale Folgen für den Patienten haben kann. Aufgrund dessen wird die Antikoagulationswirkung von Heparin während der Herzoperation engmaschig kontrolliert. Die häufigste eingesetzte Methode zur Überwachung und Ermittlung der Heparinwirksamkeit ist die Bestimmung der *activated clotting time* (ACT) [2]. Dieser Parameter ist allerdings aufgrund seiner eingeschränkten Spezifität für Heparin und seine Variabilität während der Hypothermie und Hämodilution an der HLM nicht unbedingt zuverlässig und korreliert nicht immer mit der tatsächlichen Heparinkonzentration im Blut [4, 25].

1.1 HEPARIN ALS SUBSTANZ

1.1.1 VORKOMMEN

Heparin wird im Zytoplasma an einer Reihe von Zelltypen gefunden sogar im Zytoplasma einzelliger Organismen. Es kommt im menschlichen Organismus in der Darmmukosa, Leber, Lunge, Thymus und Herz vor. Auch Lymphe, Gefäßendothel

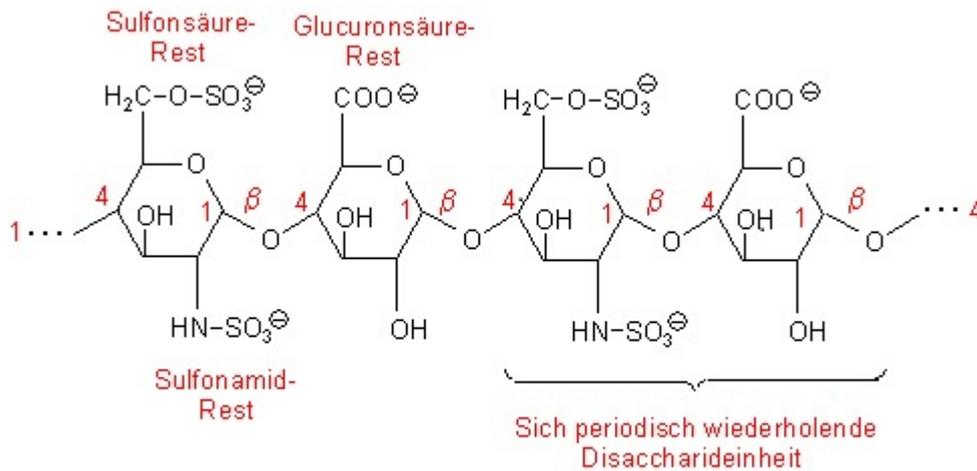
und Plasma enthalten Heparin. Wenn auch das Heparin wahrscheinlich von verschiedenen Zelltypen produziert wird, gilt es beim Menschen als sicher, dass eine große Menge aus basophilen Granulozyten und Mastozyten des Bindegewebes stammt. Diese geben ständig kleine Mengen Heparin ab, die sich möglicherweise im Kreislauf verteilen. Mastozyten sind im Gewebe um die Lungenkapillaren sehr reichlich und in den Leberkapillaren im geringen Anteil vorhanden.

Die Notwendigkeit einer hohen Konzentration an Heparin in diesen Geweben liegt darin begründet, dass eine Menge kleiner embolischer Thromben, die im langsamen Blutfluss des venösen Blutsystems gebildet werden, zu den Lungenkapillaren gelangen kann. Daher kann eine effektive und, im Vergleich zu anderen Geweben, verstärkte Heparinbildung in diesem sensiblen Bereich die Thrombenentstehung verhindern [1, 9].

1.1.2 AUFBAU

Heparin besteht aus einem Gemisch veresterter Glykosaminoglykane (GAG) mit einer Molmasse von 5000 - 30000 Dalton (Häufigkeitsgipfel etwa 15.000 Dalton). Die mit 75 – 90 % wichtigste Disaccharideinheit des Heparins besteht aus 1-4 verknüpfter alpha-L-Iduronsäure und alpha-D-Glukosaminen. Ab einer Kettenlänge von fünf Monosacchariden mit drei D-Glucosaminen und zwei Iduronsäuren wirkt Heparin gerinnungshemmend. Dieses Pentasaccharid kommt unregelmäßig in den Polysaccharidketten des Heparins vor.

Bedingt durch die Sulfatreste, die als funktionelle Gruppen im Heparin enthalten sind, liegt Heparin unter physiologischen Bedingungen als hochgeladenes Polyanion (negativ geladene Moleküle) vor. Diese Eigenschaft erlaubt es ihm, schnell an positiv geladenen Strukturen (z.B. Antithrombin III und Protamin) zu binden und damit zu agieren [5, 10, 13].



Heparin (schematischer Ausschnitt)

Abb. 1.1: Heparin chemischer Aufbau. <http://www.chemieunterricht.de/dc2/kh/heparin.htm>

1.1.3 FORMEN

Heparine für den therapeutischen Einsatz existieren in 2 Formen: die niedermolekularen (NMH) und unfraktionierten Heparine (UFH). Diese beiden Formen unterscheiden sich von einander in der Kettenlänge der jeweiligen Glykosaminoglykane (GAG) sowie der Molmasse, was auch ihren therapeutischen Einsatz erklärt. So besitzt NMH eine durchschnittliche Molmasse von etwa. 5000 Dalton (nach seiner Isolation aus dem Gewebe wird seine Molmasse herunterfraktioniert auf die o.g. 5000 Dalton, deshalb auch fraktionierte Heparine genannt) und besteht aus 5 – 17 GAG-Ketten. Die gerinnungshemmende Aktivität der niedermolekularen Heparine ist in vitro für Faktor Xa 2,5-mal höher als für unfraktionierte Heparine, während die Inhibierung von aPTT etwa gleich ist [85].

Diese Heparine eignen sich sehr gut zur Thromboseprophylaxe da man diese in der Regel laborchemisch nicht kontrollieren muss (ggf. Bestimmung der anti-Faktor-Xa-Aktivität) und werden am häufigsten subkutan (s.c.) einmal täglich oder bei manchen Produkten körperrgewichtadaptiert bis 2-mal am Tag appliziert [7].

Unfraktionierte Heparine hingegen besitzen eine Molmasse von durchschnittlich 15000 Dalton [6], haben eine kettenlänge von mehr als 18 GAG und werden heutzutage hauptsächlich in der Herzchirurgie beim Einsatz der HLM, in der Dialyse oder im Rahmen der Behandlung venöser und arterieller thromboembolischen Erkrankungen eingesetzt. Ihr Einsatz bedarf aber der stationären Überwachung und

ständigen Kontrolle (aktivierte partielle Thromboplastinzeit- (aPTT) oder ACT-Bestimmung je nach Form der Applikation: „low dose“ oder „high dose“)

1.1.4 VOR- UND NACHTEILE DER VERSCHIEDENEN HEPARINE

	Unfraktionierte Heparine (UFH)	Fraktionierte Heparine = niedermolekulare Heparine (NMH)
Bioverfügbarkeit	Unterliegt Variationen	90 - 100%
Steuerbarkeit der Therapie	PTT zu jeder Zeit bestimmbar jedoch häufigere Kontrollen als bei NMH	Anti-Xa Spiegel Bestimmung dauert länger als PTT
Blutungsrisiko	Wenn Zufuhr gestoppt, Wirkung nach ca. 2h fast aufgehoben	Bei unklarer Kumulation höher als bei UFH
Applikation durch Pat.	Nicht möglich	Für häusliche Therapie geeignet
Risiko von HIT	++	deutlich geringer
Risiko Osteoporose	++	deutlich geringer

Tab. 1.1: Vor- und Nachteile verschiedener Heparine, HIT: Heparininduzierte Thrombozytopenie [70].

1.1.5 GEWINNUNG

Heparine als therapeutische Mittel in ihren verschiedenen Formen werden hauptsächlich aus Schweinedarmmukosa und Rinderlungen gewonnen. Nach der BSE-Krise (Bovine spongiforme Enzephalopathie „Rinderwahnsinn“) Ende der 90er Jahre werden Heparine ausschließlich aus Schweinedarmmukosa extrahiert, bearbeitet und therapeutisch eingesetzt. Aus dem Darm eines Schweins (ca. 1.8 kg) können etwa 45.000 IE Heparin isoliert werden, was die Thromboseprophylaxe für etwa 3-4 Tage eines Patienten entspricht.

1.1.6 GERINNUNGSKASKADE UND WIRKUNGSMECHANISMUS VON HEPARIN

Um die Wirkung von Heparin verstehen zu können, sollte man zunächst den Ablauf der Gerinnungskaskade des extrinsischen und intrinsischen Systems vor Augen haben.

Das *Intrinsic System* dient vorwiegend dazu, kleinere Gefäßverletzungen abzudichten. Im Rahmen einer Gefäßverletzung oder bei Kontakt des Blutes mit rauen unphysiologischen Oberflächen, kommt es zunächst zu etwa einer minütigen Dauerkontraktion der glatten Muskelzellen (im Falle von Gefäßverletzung) und in der Folge zur Thrombozytenadhäsion und -aggregation. Die Thrombozyten setzen vasokonstriktische Stoffe frei, vor allem den Plättchenfaktor 3 (PF3). PF3 und der direkte Kontakt mit einer unphysiologischen Fläche setzen dann die „Gerinnungskaskade“ in Gang.

Das *Extrinsic System* hingegen erfordert weniger Schritte und ist in Sekundenschnelle aktiviert. Durch die Gewebsverletzung wird das im Gewebe vorhandene Gewebsthromboplastin (Faktor III, Thrombokinase) freigesetzt und durch freiliegende Kollagenfasern aktiviert.

Sowohl das Extrinsic als auch das Intrinsic System münden in die Aktivierung des Faktor X und verlaufen anschließend gleichartig. Der Faktor X führt dann gemeinsam mit anderen Faktoren zur Aktivierung des Prothrombin in Thrombin. (siehe Abb. 1.2)

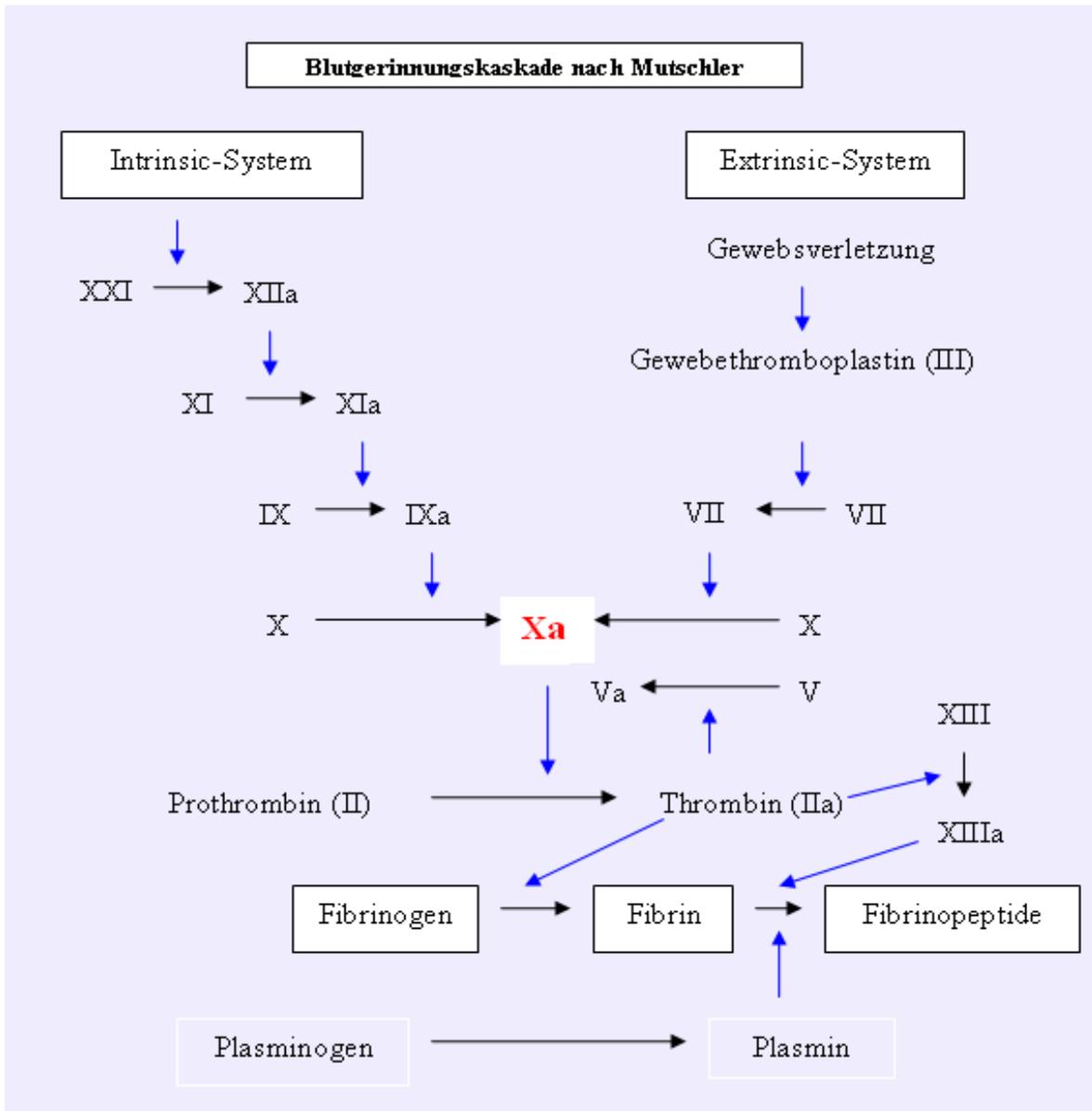


Abb.1.2 :Übersicht über die extrinsische und intrinsische Gerinnungskaskade
<http://focus-blog.pharmxplorer.at/2009/03/rivaroxaben-xarelto%C2%AE/>

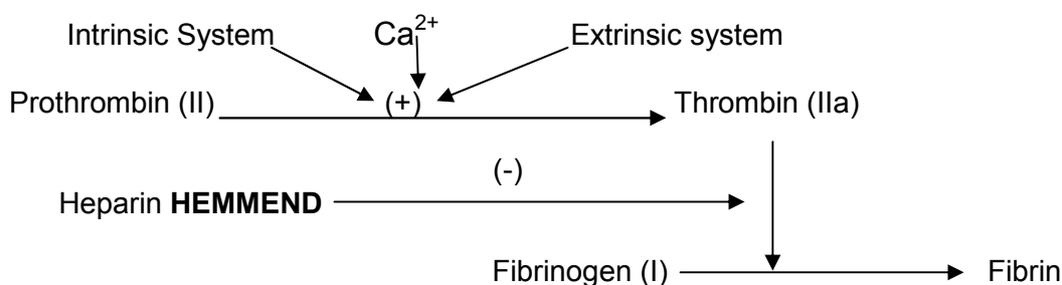
Faktor	Name	Funktion
I	Fibrinogen	Bildet das Fibrinnetz
II	Prothrombin	Aktiviert Faktor I
III	Gewebsthromboplastin (Thrombokinas)	Stimuliert die Aktivierung von Faktor VII (extrinsisches System, Hilfsprotein)
IV	Calcium	Beteiligt an der Interaktion zw. Gerinnungsfaktoren und Lipidoberflächen
V	Proaccelerin	Stimuliert die Aktivierung von Faktor II (Hilfsprotein)

VII	Prokonvertin	Aktiviert Faktor X (extrinsisches System)
VIII	Antihämophiles Globulin A	Stimuliert die Aktivierung von Faktor X (intrinsisches System, Hilfsprotein)
IX	Antihämophiles Globulin B	Aktiviert Faktor X (intrinsisches System)
X	Stuart Prower Faktor	Aktiviert Faktor II
XI	Plasmathromboplastin	Aktiviert Faktor IX
XII	Hagemann Faktor	Aktiviert Faktor XI
XIII	Fibrinstabilisierender Faktor	Stabilisiert das Fibrinnetz durch molekulare Querbrücken

Tab. 1.2: Gerinnungsfaktoren und ihre Funktion.

Sowohl UFH als auch NMH besitzen aufgrund ihrer stark negativ geladenen Eigenschaften die Affinität, an positivgeladene Strukturen anzukoppeln vor allem an Antithrombin III (AT III).

Antithrombin III ist ein im Blut kreisendes Glykoprotein, das aktivierte Gerinnungsfaktoren (Xa, IXa, XIa, XIIa und einschließlich das Thrombin) des extrinsischen und intrinsischen Systems in ihrem aktiven Zentrum irreversibel hemmt. Heparin steigert die Geschwindigkeit der Anlagerung von AT III an dem Gerinnungsfaktor um mehr als das 1000-fache und agiert als Katalysator. Zusammen bildet es mit AT III einen Komplex, der Sofortinhibitor genannt wird. Außerdem kann es mit anderen zahlreichen körpereigenen Stoffen Komplexe bilden und sich an zellulären Membranen anlagern. Von Bedeutung sind die lipolytische Wirkung und Freisetzung von Gewebeplasminogenaktivator (t-PA), der für die Fibrinauflösung notwendig ist [1, 9, 10, 11, 12].



Ab. 1.3: schematische Darstellung zur Heparinwirkung.

1.1.7 PHAHRMAKOKINETIK UND METABOLISMUS

Heparin wird intravenös (i.v.), subkutan oder perkutan verabreicht. Unfraktioniertes Heparin wird in sehr geringen Mengen im Darm resorbiert und muss daher parenteral verabreicht werden. Seine Bioverfügbarkeit beträgt beim gesunden Menschen nach subkutaner Gabe etwa 30-50%.

Nach intravenöser oder subkutaner Injektion werden zunächst die zellulären Bindungsstellen von Heparin gesättigt. Erst danach ist die Dosis-Wirkung-Beziehung linear und der therapeutisch wirksame Heparinspiegel wird erreicht. Nach intravenöser Applikation kommt es Initial zu einer schnellen Elimination von etwa 30-40% des injizierten Heparins aus dem Kreislauf. Dieser schnell ablaufende Sättigungsprozess wird begründet durch die starke Bindung von polyanionischem Heparin an Gefäßendothel, Makrophagen sowie an Plasmaproteine. Erst danach folgt eine langsamere dosisabhängige Elimination mit einer Halbwertszeit (HWZ) von etwa 1,5 – 2 Stunden [13, 14].

Die HWZ von Heparin ist dosisabhängig (siehe Tabelle 1.3)

UFH Dosis	HWZ
25 IE/kg	30 min.
100 IE/kg	56 min.
400 IE/kg	152 min.

Tab. 1.3: Heparindosis und entsprechende HWZ [15].

Sowohl UFH als auch NMH sind nicht plazentagängig und treten nicht in die Muttermilch ein. Sie können somit in der Schwangerschaft und Stillzeit eingesetzt werden [69].

Die NMH haben nach subkutaner Gabe eine Bioverfügbarkeit von etwa 90 %, dies wird erklärt aufgrund ihrer geringen Affinität zu Makrophagen, Endothelzellen, Plasmaproteine und Thrombozyten. Es resultiert dann eine längere Halbwertszeit der Anti-Xa-Aktivität von bis zu 6 Stunden. Die NMH werden, im Gegensatz zu UFH, ohne vorherige Verstoffwechslung in der Leber in unveränderter Form ausschließlich über die Niere ausgeschieden und sind nicht plazentagängig.

Außerdem können die NMH nicht durch Protamin vollständig antagonisiert werden (nur partiell) und können durch die Dialyse dem Kreislauf nicht entzogen werden [16, 17, 18, 20].

Die UFH werden nach ihrer i.v. Applikation vorübergehend zu 60 % in der Leber und zu 20% in der Milz gespeichert. Die zentrale Rolle im Heparinstoffwechsel spielt die Leber. Das in den Sinusoidalzellen gespeicherte Heparin wird dann durch die Heparinase in Uroheparin metabolisiert. Uroheparin besitzt im Gegensatz zu Heparin eine sehr schwache AT III-Aktivität und wird in dieser Form tubulär über die Niere ausgeschieden.

1.1.8 KLINISCHE EINFLUSSFAKTOREN AUF DIE HEPARINWIRKUNG

Viele Studien beschäftigten sich mit den klinischen Einflussgrößen auf die Heparinwirkung sowie seinen Metabolismus im Körper. Die folgende Tabelle zeigt die wichtigsten Einflussfaktoren:

Größe	Einfluss
Nierenfunktion/Leberfunktion	Verstärkte Heparinwirkung bei Insuffizienz
Antithrombingehalt (z.B. bei Sepsis vermindert)	Direkte Abhängigkeit der Heparinwirkung
Thrombozytenzahl	Thrombozytopenie verstärkt die Heparinwirkung
Beschleunigte Thrombinbildungsrate (z.B. bei Malignome)	Abgeschwächte Heparinwirkung
pH-Wert	Verringerte Heparinwirkung im sauren Bereich

Tab. 1.4: Einflussgrößen auf Heparinwirkung und Metabolismus [70].

Die Bedeutung der Nierenfunktion für die Wirkung und den Metabolismus von Heparin wird an urämischen und niereninsuffizienten Patienten deutlich. Eine Arbeit von Teien et al. [65] zeigte, dass nephroektomierte Patienten eine doppelt so lange Heparinhalbwertszeit aufweisen als gesunde Patienten. Auch bei urämischen

Patienten wurden verlängerte HWZ von Heparin beobachtet. Andrassy et al. fanden heraus, dass urämische Patienten einen höheren Bedarf an Heparin bei subkutaner Verabreichung haben. Dies ist auf die schlechte Resorption zurückzuführen [66].

Auch bei Patienten mit Lebererkrankungen wie z.B. Leberzirrhose, fanden sich verlängerte Heparin-Halbwertzeiten als Hinweis auf ein vermindertes Verteilungsvolumen [67]. Hirsh et al. fanden in einer Arbeit heraus, dass Heparin bei thrombembolischen Erkrankungen und Thrombophlebitis eine verkürzte Halbwertszeit aufweist [68]. Dies wird auf eine geringere Interaktion der niedermolekularen Heparinfraktionen mit dem Plättchenfaktor 4 zurückgeführt.

Die klinische Bedeutung von Thrombozyten nach HLM-Einsatz ist noch nicht ganz im Detail geklärt. Lange Zeit wurde die HLM-assoziierte Thrombozytendysfunktion als einer der Hauptindikatoren für die Gerinnungsstörung nach HLM-OP's. Dies wird erklärt mit dem HLM-Einsatz, der wahrscheinlich eine hämodilutionsbedingte Thrombozytopenie verursacht [83].

Ein weiterer Faktor, der eine Thrombozytenaktivierung induziert, ist die Gabe von Heparin, für welches eine ausgeprägte Steigerung der Thrombozytenaggregation und eine Abnahme der thrombozytären Mikroaggregatbildung gezeigt wurde [84]. Das Resultat von all dem ist eine möglicherweise verstärkte intra- und postoperative Blutungskomplikation.

1.2 EINSATZ VON HEPARIN FÜR DIE ANTIKOAGULATION

Wie schon erwähnt, ist Heparin heutzutage ein wichtiger Bestandteil der Medizin geworden. Die vielfältigen Anwendungsmöglichkeiten machen es zu einem der wichtigsten Medikamente für die Therapie verschiedener Erkrankungen sowie zur Durchführung größerer Eingriffe v.a. in dem Bereich der Herz- und Gefäßchirurgie. Das Einsatzgebiet von Heparin kann je nach seiner Form wie folgt eingeteilt werden:

- Therapie und Prophylaxe von thromboembolischen Erkrankungen z.B. bei tiefen Venenthrombosen und Lungenembolien
- Peri- und postoperative Thromboseprophylaxe.

- Im Rahmen der Frühbehandlung des akuten Herzinfarktes und „ST-elevation myocardial infarction, STEMI“
- Im Rahmen der diagnostischen und therapeutischen perkutanen Koronarintervention (PCI) bei akutem Koronarsyndrom oder
- Beim Einsatz der extrakorporalen Zirkulation (EKZ) z.B. in der Herzchirurgie oder bei der Hämö- und Peritonealdialyse. Hier hat das UFH die größte Bedeutung.
- In der Intensivmedizin zur Thromboseprophylaxe und zur Behandlung von disseminierten intravasalen Koagulopathien (DIC) bei septischen Patienten.

1.2.1 DOSIERUNG

Die unfraktionierten Heparine werden aufgrund ihrer eingeschränkten Bioverfügbarkeit (30%) und kurzen Halbwertszeit in der Regel bei der therapeutischen Dosierung 2 – 3-mal intravenös oder als Dauerinfusion appliziert, da die UFH keine lineare Beziehung zum Dosis-Wirkung-Ablauf haben. Je nachdem wie UFH an Plasmaproteinen und anderen plasmatischen positiv geladenen Strukturen binden, ist die Wirksamkeit individuell unterschiedlich. Um ihre Wirksamkeit zu gewährleisten bedarf es der ständigen Kontrolle der aPTT. In therapeutischen Dosierungen wird eine aPTT von dem etwa 1,5 – 2 fachen des Normwerts (Normwert 20-38 Sek.) angestrebt.

Im Rahmen von herzchirurgischen Eingriffen wird UFH standardmäßig mit der Dosierung 300-400 IE/kg Körpergewicht als Initialdosis verabreicht und nach etwa 5 Minuten erfolgt die Wirksamkeitskontrolle mittels ACT. Hier ist ein Wert von über 450 Sek. wünschenswert, da man erst danach die HLM am Patienten anschließen und starten kann[1, 5].

Die NMH hingegen haben bei subkutaner Applikation nahezu eine 90%ige Bioverfügbarkeit und eine Halbwertszeit von etwa 6 Stunden. Bei der Erforschung dieser Heparine fand man, dass ihre Haupteigenschaft in der Verlängerung der Anti-Xa-Aktivität besteht, die aPTT bleibt normal. Diese Eigenschaft macht es besonders gut geeignet für die Thromboseprophylaxe. Eine laborchemische Wirkungskontrolle

ist in der Regel nicht notwendig, außerdem ist das Blutungsrisiko unter dieser Therapie sehr gering.

Seit ihrer Zulassung 1986 stehen weltweit insgesamt 9 NMH zur Verfügung, davon sind 6 in Deutschland zugelassen (siehe Tabelle 1.4).

Wirkstoff	Handelsname	Indikation	Dosis
Certoparin	Monoemborex	TVT	2x 8000 IE
Enoxaparin	Clexane, Lovenox	TVT, LE	2x 1mg/kg KG
Nadroparin	Fraxiparin	TVT	2x 3800-9500 IE anti-Xa od. 1x 7600-17100 IE anti-Xa (Dosisstufen nach KG)
Reviparin	Clivarin	TVT	2x 71,5 IE anti-Xa/kg
Tinzaparin	Innohep	TVT, LE	1x 175 IE anti-Xa/kg
Deltaparin	Fragmin	TVT, LE	1x 5000 IE

Tab. 1.5: zugelassene NMH in Deutschland und Indikation [19].

TVT: tiefen Venen Thrombose, LE: Lungenembolie, KG: Körpergewicht.

Die meisten dieser Heparine werden ein- oder zweimal am Tag verabreicht und nach Körpergewicht dosiert (bis auf Monoemborex und Fragmin). Viele Studien konnten keinen signifikanten Unterschied in der Wirksamkeit zwischen diesen Heparinen belegen [21]. Im direkten Vergleich untereinander unterscheiden sich Thromboembolierезидиве, Blutungen und Todesfälle nicht, wenn die Tagesdosis z.B. von Enoxaparin (Clexane) oder Nadroparin (Fraxiparin) einmal am Tag oder verteilt auf 2 Einzeldosierungen am Tag verabreicht wird [22, 23].

1.2.2 MESSUNG DER WIRKSAMKEIT VON HEPARIN

Aufgrund der ausgeprägten Tendenz seiner extralangen, stark negativgeladenen Ketten, unspezifisch an extravaskuläre Strukturen zu binden sowie der schlechten Bioverfügbarkeit wird klar wie wichtig es ist, die Dosierung und Wirksamkeit von unfraktioniertem Heparin messen zu können. Die Nachteile einer Fehldosierung könnten fatal sein im Sinne von starken Blutungen bei höheren Dosen bzw. eingeschränkter Gerinnung bei niedrigen Dosen.

Bei den herzchirurgischen Eingriffen und nach voller Heparinisierung mit UFH wird in der Regel die Heparinwirksamkeit mit Hilfe der ACT bestimmt. Die ACT wurde 1966

von Hattersely eingeführt [39]. Eine frisch abgenommene Blutprobe wird in ein mit Kaolin oder Celite vorgefülltes Röhrchen eingeführt. Es kommt zur Aktivierung der Kontaktphase und somit zur Gerinnung der Probe über das intrinsische System. Die Zeit bis zur Bildung des ersten Koagels wird gemessen.

5 Minuten nach der Bolusgabe von durchschnittlich 300-400 IE/kg KG wird die ACT bestimmt. Der Zielwert liegt bei über 450 Sekunden [24]. Dieser Test, trotz seiner eingeschränkten Spezifität, hat sich in der Kardiochirurgie wegen seiner schnellen und einfachen Durchführung direkt im OP-Saal bzw. am Patientenbett durchgesetzt. Bei der Behandlung von thromboembolischen Erkrankungen wie z.B. Lungenembolien, Gefäßverschlüssen, akuten Herzinfarkten oder auch Vorhofflimmern kann die kontinuierliche i.v. Gabe von UFH als Therapie in Erwägung gezogen werden. Hier sollte auch die Heparinwirksamkeit ermittelt werden. Am besten eignet sich die Bestimmung von aPTT. Ein Ziel PTT wird festgelegt je nach Behandlung und die Heparinmenge wird dann dementsprechend angepasst. In der Regel reicht hier die aPTT-Bestimmung und in seltenen Fällen kann - wie bei der Dialyse oder extrakorporalen Membranoxygenierung (ECMO) - die Bestimmung von der ACT zusätzlich zu aPTT von Nutzen sein.

Die NMH werden in der Regel subkutan verabreicht. Sie haben eine nahezu komplette Bioverfügbarkeit und dementsprechend eine längere HWZ bis zu 8 Stunden. Ihre Wirkung muss daher nicht kontrolliert und bestimmt werden. In Ausnahmefällen bei bestimmten Patienten wie z.B. Neugeborenen, Kindern, Schwangeren, Nierenkranken, unter- oder übergewichtige Patienten, wird die Überwachung der Heparinkonzentration empfohlen. Hier kann die Wirkung mit Bestimmung der Anti-Xa-Aktivität ermittelt werden.

1.2.3 NOTWENDIGKEIT FÜR DIE HERZ-LUNGEN-MASCHINE

Heutzutage werden nahezu alle herzchirurgischen Eingriffe mit Hilfe der Herz-Lungen-Maschine durchgeführt, in Ausnahmefällen wie z.B. in der Off-Pump Koronarherzchirurgie wird darauf verzichtet. Die HLM hat die Aufgabe während der Operation am stillgelegten und blutleeren Herzen, die Funktion des Herzens und der Lunge zu ersetzen. Das venöse Blut fließt vom Vorhof über die venöse Kanüle passiv durch die Schwerkraft in die HLM, wird filtriert, mit Sauerstoff im

Membranoxygenator angereichert und je nach Bedarf gekühlt oder durch einen Wärmeaustauscher erwärmt. Von dort wird es wieder über die arterielle Kanüle Rollerpumpen- oder zentrifugalgetrieben in die Aorta befördert. Abbildung 1.4 zeigt eine schematische Darstellung einer HLM.

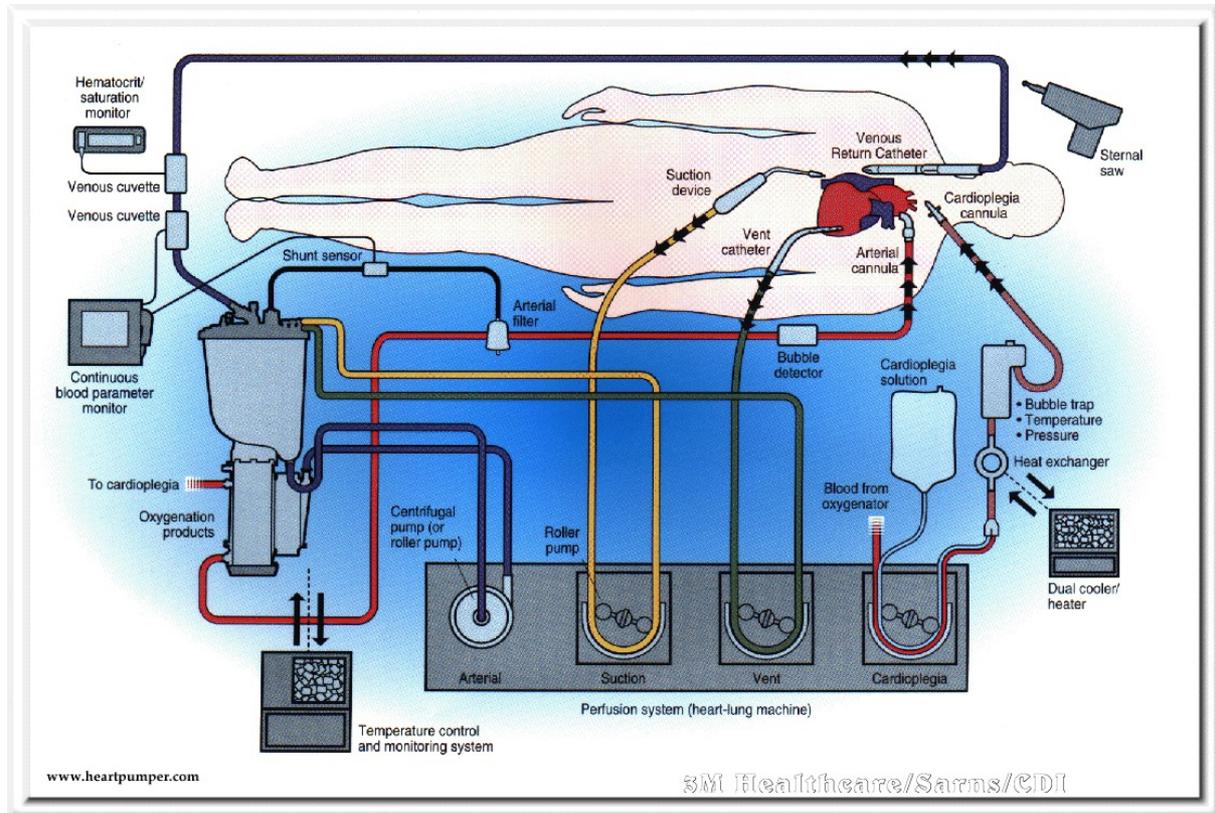


Abb. 1.4: Herz-Lungen-Maschine, www.heartpumper.com

Der Kontakt zwischen dem Blut und den nichtphysiologischen Oberflächen der HLM würde ohne Weiteres die intrinsische Gerinnungskaskade innerhalb von Minuten aktivieren und das Blut würde sofort gerinnen. Es resultiert eine fatale Verstopfung der HLM, was zu einem Bypass-Stopp führen und im schlimmsten Fall letal für den Patienten enden könnte [25]. Deshalb ist die Vollheparinisierung und komplette Antikoagulation schon vor Beginn des Bypasses mit UFH notwendig. Dies erfolgt wie erwähnt mit einer Bolusgabe von 300-400 IE/kg KG, deren Wirkung nach 5 Minuten mit Hilfe der ACT bestimmt wird. Aufgrund der kurzen HWZ von UFH sollte während der Operation alle 30 Minuten eine ACT-Bestimmung erfolgen und ggf. je nach Wert Heparin nachapplied werden.

Von Bedeutung ist auch die Antithrombin III-Konzentration im Blut während des Kardiopulmonalen Bypasses. Studien haben gezeigt, dass bei verminderter AT III-Konzentrationen keine effektive Wirkung des Heparin erreicht werden kann. Despotis

et al. haben gezeigt, dass die Verabreichung von Antithrombin III während Herzoperationen dazu führen kann, die Gerinnungssituation während des kardiopulmonalen Bypasses stabil zu halten und die mikrovaskuläre Blutungen sowie die Gabe von Blutprodukten zu reduzieren [32].

Auf der anderen Seite ist der Anschluss an der HLM mit weiteren Komplikationen verbunden. Viele Studien machen den Kontakt des Blutes mit der HLM neben chirurgischen Faktoren wie Komplexität des Eingriffes (z. B. Kombinationseingriff an Koronararterie und Herzklappe), Re-Operation, Größe der Wundfläche sowie patientenseitigen Faktoren (z. B. Einnahme von Thrombozytenaggregationshemmern oder Therapie mit Antikoagulanzen) für die postoperative Gerinnungsstörung nach Herzoperationen verantwortlich.

Die Auswirkungen der HLM auf das Gerinnungssystem sind komplex und eng gekoppelt an die Aktivierung inflammatorischer Mediatorokaskaden. Darüber hinaus beeinflussen Faktoren wie die HLM-induzierte Thrombozytopathie, Thrombozytopenie, Gerinnungsfaktorenverbrauch, residuale Heparinwirkung, Hypothermie und eine verstärkte fibrinolytische Aktivität die postoperative Funktion des Gerinnungssystems [62] (Abb. 1.5).

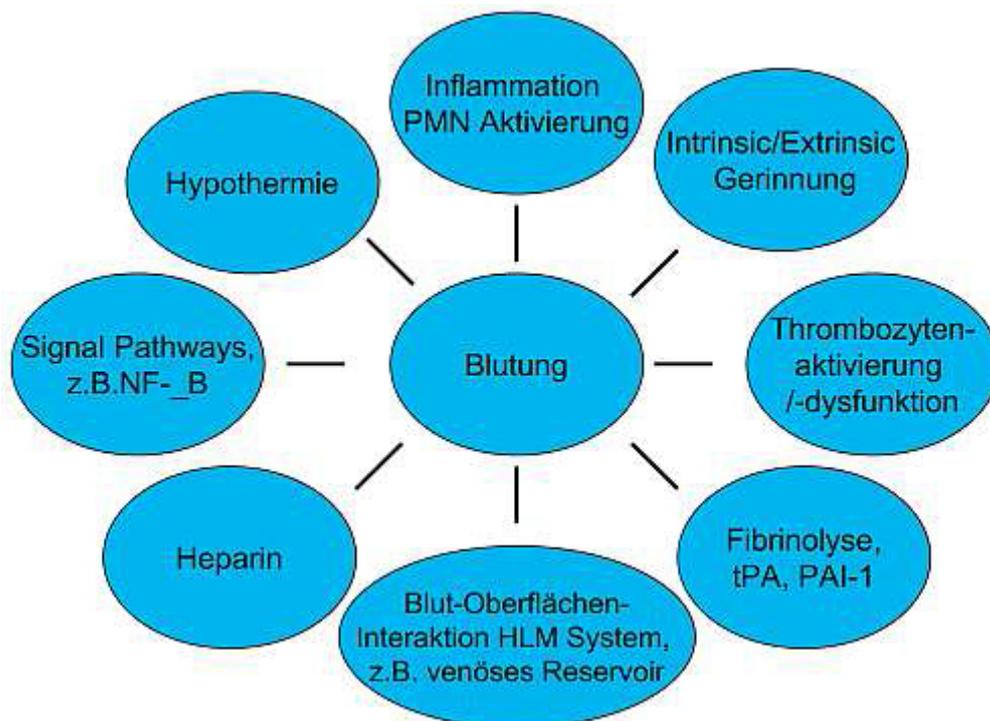


Abb. 1.5: Blutungsursachen im Zusammenhang mit der HLM, modifiziert nach Paparella.

1.2.4 ANTAGONISIERUNG VON HEPARIN (PROTAMIN)

Nach Beendigung der extrakorporalen Zirkulation bei herzchirurgischen Eingriffen wird die volle Heparinisierung durch das Medikament Protamin (Wirkstoff Protaminsulfat) antagonisiert und somit ein normaler Ausgangskoagulationsstatus erreicht. Protamin ist ein basisches Polypeptid bestehend aus 31 Aminosäuren mit hohem Argininanteil und somit stark positiv geladen. Es besitzt eine starke spezifische Affinität zu negativ geladenen Heparinmolekülen. Nach seiner intravenösen Injektion bindet es rasch an Heparin und es entsteht ein inaktiver stabiler Salzkomplex, der keine Wirkung mehr auf Antithrombin III hat. Somit können die Gerinnungsfaktoren wieder aktiviert werden.

Protamin wird aus Sperma oder Rogen von Fischen (meist Salmonidae und Clupeidae) durch Extraktion gewonnen.

Als Faustregel gilt 1 IE Protamin deaktiviert 1 IE unfraktioniertes Heparin, daher wird es am Ende der EKZ im Verhältnis 1:1 zur gesamten gegebenen Heparinmenge injiziert. Es kann auch zur Antagonisierung von NMH verabreicht werden, allerdings ist die Wirkung hier nur zu 50% zu beobachten.

Protamin sollte langsam über 15 min. gegeben werden, da es sonst in höheren Dosierungen und nach schneller i.v. Gabe zu Kreislaufdepressionen, starker Hypotonie, anaphylaktischem Schock, Anstieg des linkventrikulären enddiastolischen Druckes, nicht kardialbedingtem Lungenödem und erhöhtem pulmonalen Druck führen kann [89]. Protamin kann selber in hohen Dosen antikoagulatorisch durch Hemmung der Fibrinpolymerisation und der plasmatischen Gerinnungsfaktoren wirken, auch eine starke Hemmung und Inaktivierung der Thrombozyten wurde durch verschiedene Arbeiten gezeigt, wie z.B. die Veröffentlichung von Shigeta et al. [43] und Carr et al. [92].

Die häufigste Nebenwirkung von Protamin in hohen Dosen nach Beendigung der EKZ ist die systemische Hypotonie und der negativ inotrope Effekt auf die Herzleistung. In einer Arbeit von Yoshikazu et al. [26] wurde gezeigt, dass der Mechanismus hier auf der Tatsache beruht, dass Protamin reich an der basischen Aminosäure Arginin ist, die eine Vorstufe der Stickstoffmonoxid-Synthese (NO) ist. NO ist ein direkter Vasodilator. Durch die erhöhte NO-Konzentration im Blut kommt es zur Dämpfung und Verminderung des Sympathikustonus im Zentralnervensystem

mit nachfolgender systemischen Hypotonie, Bradykardie und negativer Inotropie [27, 28, 29, 30, 31].

1.3 ALTERNATIVEN ZU HEPARIN BEIM EINSATZ DER HLM:

Für den Einsatz der HLM ist Heparin als Antikoagulans das Mittel der Wahl. Im Fall einer Kontraindikation für Heparineinsatz muss allerdings auf ein anderes Gerinnungsmittel umgestellt werden. Die häufigste schwerwiegendste Erkrankung und zugleich unerwünschte Nebenwirkung von Heparin ist die heparininduzierte Thrombozytopenie (HIT). Heparine binden als negativgeladene Moleküle an positiv geladene endovaskuläre Partikel wie Proteine und auch an Thrombozyten. In den ersten 2 Tagen vor allem nach i.v. Gabe von UFH in therapeutischer Dosierung kommt es bei etwa 25% der Patienten zu einem geringen Abfall der Thrombozytenzahl, die sich dann im weiteren Verlauf spontan normalisieren. Diese Form wird als HIT I oder nichtimmunologische heparin-assoziierte Thrombozytopenie genannt und klinisch irrelevant.

Bei der HIT II oder heparininduzierte Thrombozytopenie kommt es durch Bindung von Heparin an Thrombozyten zur Bildung von Antikörpern, welche Thrombozyten in die Gegenwart von Heparin aktivieren. In 75% der Fälle ist der Heparinplättchenfaktor 4 (H-PF4) das ursächliche Antigen. Hier erkennt der Antikörper, meistens ein IgG, den H-PF4 und aktiviert die Thrombozyten über den Fc-Rezeptor, dies führt zum Thrombozytenabfall auf Werte unter 100000 und paradoxerweise zur Thrombozytenaggregation. Es kommt nachfolgend etwa 4-14 Tage nach Heparingabe zur Thrombenbildung mit lebensbedrohlichen Gefäßverschlüssen und gar Schlaganfällen wenn die Erkrankung nicht frühzeitig erkannt und Heparin nicht abgesetzt wird [33].

Daher sollten Patienten mit gesicherter HIT II Diagnose mit Antikörpern, die einem herzchirurgischen Eingriff mit HLM-Einsatz benötigen, mit einem Alternativ-Antikoagulans therapiert werden. Hierzu eignen sich am besten die Präparate Danaparoid (Organan®), Lepirudin (Refludan®) und Argatroban (Argatra®).

1.3.1 DANAPAROID

Danaparoid ist ein Anti-FXa-Präparat und besteht aus einem Gemisch von depolymerisierten GAG mit einem Molargewicht von durchschnittlich 6000 – 6600 Dalton. Es interagiert kaum mit H-PF4 und damit ist nicht in der Lage, das HIT II Antigen zu bilden. Es hat eine HWZ von etwa 22 Stunden. Mit Hilfe der Anti-FXa-Bestimmung kann seine Wirksamkeit überwacht werden.

1.3.2 LEPIRUDIN, ARGATROBAN

Lepirudin und *Argatroban* sind direkte Thrombininhibitoren. Im Gegensatz zu Heparin induzieren sie weder HIT II, noch reagieren sie mit Antikörpern. Aufgrund ihrer kurzen HWZ von 80 min. bei Lepirudin und 52 min. bei Argatroban sind sie besser steuerbar als Danaparoid. Ihr Monitoring erfolgt mit Bestimmung der Ecarinzeit und PTT [34].

Diese Präparate haben den Nachteil, dass sie keine Heparin vergleichbare Antagonisierung mit Protamin oder anderem Antidot haben. Dementsprechend ist das Blutungsrisiko bei ihrer Anwendung sehr groß. Lediglich kann man ihre Wirksamkeit und therapeutischen Bereiche mit Bestimmung des Anti-FXa- (Danaparoid) oder der PTT-Spiegels (Lepirudin, Argatroban) messen. Diese Alternativ Präparate kommen zum Einsatz als Ersatz für Heparin wenn HIT II-Antikörper aktuell nachgewiesen sind. Haben die Patienten lediglich eine HIT II Anamnese ohne aktuellen Antikörper-Nachweis, kann die Operation mit Heparin durchgeführt werden, allerdings muss postoperativ auf alternativen Antikoagulanzen umgestellt werden, da es erneut zur Antikörperbildung kommen kann.

1.4 PROBLEME BEI DER MESSUNG VON HEPARINWIRKSAMKEIT

Während der herzchirurgischen Eingriffe mit HLM-Einsatz muss die Heparinwirksamkeit engmaschig kontrolliert werden. Verminderte Wirksamkeit kann zur Aktivierung von Gerinnungskaskaden und nachfolgender Thrombenbildung mit Verstopfung der Herz-Lungen-Maschine und fatalen intraoperativen Komplikationen führen. Andererseits können hohe Dosierungen zu intra- bzw. postoperativen Spontanblutungen, die manchmal nicht beherrschbar sind, führen. Aus diesen

Gründen erfolgt während der EKZ die Heparinwirksamkeitskontrolle heutzutage hauptsächlich durch die Bestimmung der ACT als Standardmethode. Da aber Heparinkonzentrationen und Wirksamkeit aufgrund des Alters, Körpergewichtes und der Clearance (Funktion der Leber und Niere) individuell unterschiedlich sind, ist diese Methode als ein nicht besonders zuverlässiges Messmethode anzusehen. Andere Faktoren, die die ACT beeinflussen und falsche Rückschlüsse auf die tatsächliche Heparinkonzentration ziehen lassen, sind Antithrombin-III-Spiegel im Blut [32] und auch Thrombozytenzahl und –Funktion, wie Kesteven et al. zeigen konnten [40].

Ein weiteres Problem zur Abschätzung der richtigen Heparinkonzentration und Wirksamkeit während der herzchirurgischen Eingriffe stellt die Hypothermie dar. Viele Eingriffe in der Herzchirurgie benötigen ein Abkühlen des Patienten auf Temperaturen bis hin zu 18° C um mögliche Organschädigungen bei intraoperativem Kreislaufstillstand zu verhindern. Eine Arbeit von Habbab et al. [35] zeigte, dass Hypothermie und Hämodilution die Wirkungsdauer von Heparin beeinflussen kann, indem sie verlängert wird.

Viele Studien zeigten schwache Korrelationen zwischen der ACT-Messung und der tatsächlichen Heparinkonzentration im Blut [36, 41, 42, 44]. Auch zwischen Erwachsenen und Kindern bestehen Diskrepanzen bezüglich des Heparin-Metabolismus während der Eingriffe mit Hilfe der HLM. Eine Arbeit von Turner Gomes et al. [37] zeigte, dass Kinder in der Regel mehr Heparin benötigen, um die gleiche ACT- bzw. erwünschte Heparinkonzentrationen im Blut zum nötigen Einsatz der HLM zu erreichen, als Erwachsene. Eine andere Arbeit von D'Errico et al. [38] untersuchte die erforderlichen Heparinmengen vor Beginn des kardiopulmonalen Bypasses in 4 Altersklassen: Kleinkinder (jünger als 1 Jahr), Kindergarten (1 bis 5 Jahre), im schulpflichtigen Alter (5 bis 14 Jahre), und Erwachsene (älter als 14 Jahre). Hier wurde gezeigt, dass die erforderlichen Heparin-Mengen um einen ACT-Wert von 450 Sekunden zu erreichen, im Vorschulalter etwa 30% höher lagen als bei Erwachsenen.

Eine direkte Messung des Heparinspiegels ist im Labor zwar möglich, allerdings ist sie zeitaufwendig und ungeeignet, um sie als *point of care-Methode* zu implementieren.

1.5 VERFAHREN ZUR MESSUNG DES HEPARINSPIEGELS UND WIRKSAMKEIT

Man kann spezifisch den Heparinspiegel im Labor bestimmen, dies ist aber zeitaufwendig und eignet sich nicht zur schnellen Ermittlung der Heparinwirksamkeit während des HLM-Einsatzes in der Herzchirurgie im OP-Saal. Verfahren mit point of care Prinzip, die direkt und schnell vor Ort (im OP-Saal) durchgeführt werden, haben den entscheidenden Vorteil der schnellen Verfügbarkeit der Ergebnisse mit der Möglichkeit der zielgerichteten therapeutischen Intervention. In den letzten Jahren wurden verschiedene Verfahren zur Ermittlung der Heparin Wirksamkeit entwickelt. Je nach Messgrößen und Prinzip unterscheidet man Systeme, deren Prinzip auf Analyse der *plasmatischen Gerinnung* beruht (wie z.B. ACT und Hepcon® HMS von Medtronic) und Verfahren zur Erfassung der *Thrombozytenfunktion* wie den PFA 100-Test oder RPFA (Rapid Platelet Funktion Analyzer). Es existieren auch *kombinierte Systeme* zur Erfassung der plasmatischen Gerinnung, Thrombozytenfunktion sowie Fibrinolyse (viskoelastische Mehtoden) [54].

1.5.1 ACTIVATED CLOTTING TIME (ACT)

Über die ACT Messmethode zur Erfassung der plasmatischen Gerinnung wurde in *Kapitel 1.2.2* ausführlich berichtet.

Aufgrund der schnellen und einfachen zur Verfügung gestellten Ergebnisse ist die ACT-Meßmethode nachwievor der Goldstandard zur Erfassung der Heparinwirksamkeit während Herzoperationen. Diese Messung ist jedoch störanfällig gegenüber einiger Faktoren, wie z.B. den Thrombozyten und ihren Funktionen, Hypothermie, Einnahme von Medikamenten wie Thrombozytenaggregationshemmer, Fibrinogen- und Gerinnungsfaktorenspiegel. Abbildung 1.6 zeigt eine schematische Darstellung dieser Einflussfaktoren auf die Messgenauigkeit der ACT-Methode.

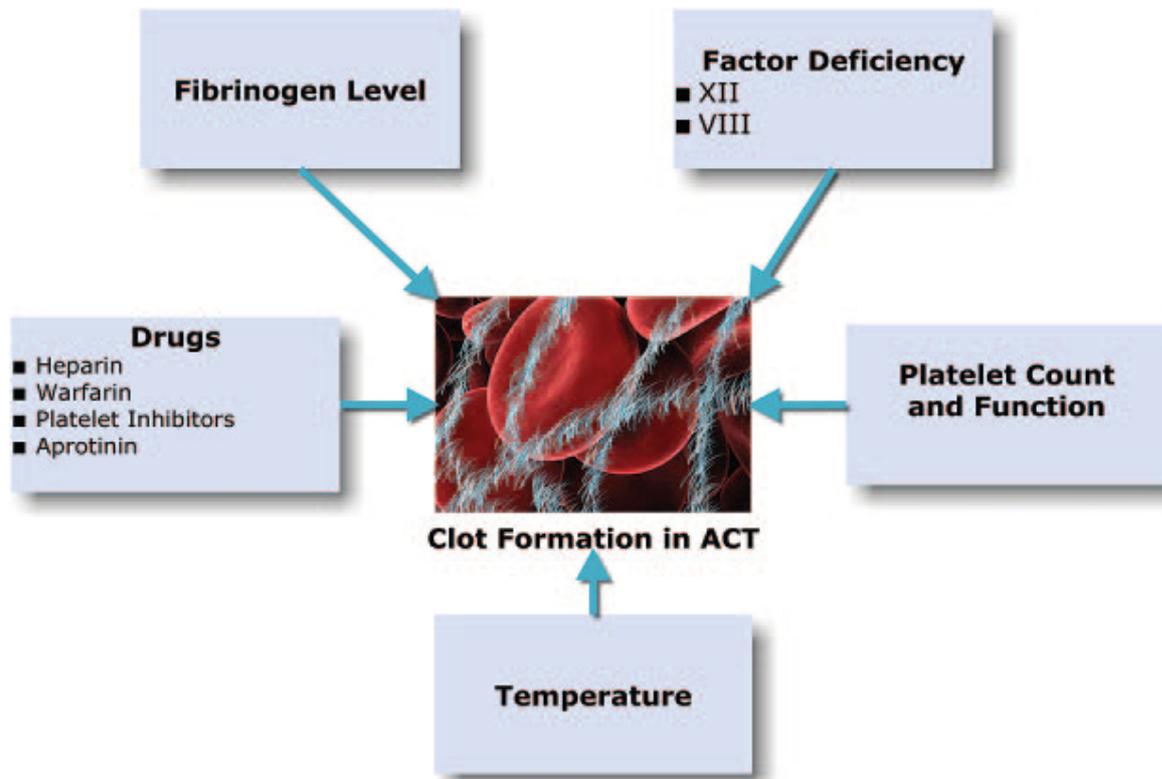


Abb. 1.6: Einflussfaktoren auf die ACT-Messung [2].

1.5.2 HEPARIN MANAGEMENT SYSTEM (HEPCON® HMS)

Das Prinzip dieses Systems soll auf der Tatsache basieren, dass die Gerinnungszeit einer mit Heparin versetzten Blutprobe dann am kürzesten ist, wenn exakt zur kompletten Antagonisierung die benötigte Menge an Protamin zu dieser Blutprobe zugegeben wird [93]. Wäre die Protaminmenge zu gering oder zu hoch, wäre dann die Gerinnungszeit verlängert, da Protamin selbst in Überschuss hemmend auf die Gerinnung, durch Hemmung der plasmatischen Gerinnungsfaktoren [43, 92], wirken kann.

Messprinzip: frisch abgenommenes Blut wird in das System in 6 Kammern eingesetzt. Dabei werden dann parallel ACT Bestimmungen durchgeführt, bei denen unterschiedlich viel Protamin zugesetzt wird. So würde die Gerinnungszeit (gemessen mit Hilfe der ACT-Methode) am kürzesten in der Messkammer ausfallen, in der die zu bestimmende Heparinkonzentration der vorliegenden

Protaminkonzentration am nächsten ist. Mit Hilfe der Protaminmenge in der betreffenden Kammer lässt sich dann die Heparinkonzentration berechnen.

1.5.3 THROMBOELASTOMETRIE BZW. THROMBOELASTOGRAPHIE

Ein weiteres verbreitetes Verfahren zur Messung der Gerinnungssituation stellt die Thrombelastometrie (TEM) dar (oder auch Thrombelastographie, TEG genannt), welche in ihrer klassischen Form im Jahr 1948 von Prof. Hellmut Hartert in Heidelberg entwickelt wurde [52].

Dieses diagnostische Verfahren untersucht heutzutage nach dem Rotationsprinzip (Rotationsthrombelastographie, ROTEG) im Vollblut die Gerinnungseigenschaften und liefert in einem Arbeitsgang fortlaufend Aussagen über die Aktivität der Gerinnungsfaktoren, Thrombozyten, Heparin sowie die Lyse (Fibrinolyse) des Blutgerinnsels. TEM misst die Interaktionen von Gerinnungsfaktoren, Inhibitoren und Zellkomponenten, während sich das Gerinnsel bildet und anschließend lysiert und überträgt sie fortlaufend als diagnostische Kurven [53].

1.6 FRAGESTELLUNG

Die Messgenauigkeit der ACT-Methode als Goldstandard zur Überwachung der Gerinnung während der pädiatrischen und erwachsenen Herzeingriffe mit Hilfe der Herz-Lungen-Maschine wurde durch viele Studien als ein nicht-zuverlässiges Verfahren zur Messung von Heparinwirksamkeit in Frage gestellt. Daher ist es von Nöten, neue Heparin-Messmethoden zu erforschen und zu entwickeln. Diese sollten kostengünstig, leicht zu bedienen sein und möglichst schnelle und präzise Aussagen über die Heparinspiegel im Blut liefern, damit sie als *point of care* Verfahren dienen zu können.

Durch die Optimierung der Gerinnungsüberwachung während der extrakorporalen Zirkulation sollten die perioperativen Blutungen deutlich vermindert werden. Ein erhöhter perioperativer Blutverlust aufgrund von Störungen der Hämostase bedeutet für den Patienten ein erhöhtes Risiko für die Morbidität und Mortalität, sowie längere Verweildauer im Krankenhaus und höheres Risiko für Infektionen. Zusätzlich stellen auch die anfallenden Kosten für die Behandlungen von postoperativen Blutungen in der heutigen durch zunehmende Ökonomisierung geprägten Zeit einen nicht zu vernachlässigen Faktor dar.

In unserer orientierenden Studie setzten wir als Ziel, ein neues Messprinzip zur spezifischen und direkten Messung von Heparinspiegeln im Blutplasma bei pädiatrischen Herzeingriffen unter Einsatz der HLM zu validieren. Diese neue Messmethode wurde bereits bei erwachsenen Patienten untersucht, und es wurde gezeigt, dass es nur eine schwache Korrelation zwischen ACT-Werten und Heparinspiegeln gibt.

Nun soll die Validierung der neuen Messmethode auf pädiatrische herzchirurgische Eingriffe erweitert werden, mit dem Ziel, die Korrelation zwischen ACT-Zeiten und den tatsächlichen Plasma-Heparinkonzentrationen zu überprüfen.

2 Material und Methoden

2.1 MEßMETHODIK

Die neue Messmethode zur Ermittlung von direktem Heparinspiegel im Blutplasma wurde im Institut für Biophysik an der Goethe Universität Frankfurt am Main entwickelt. Es ist ein neu entwickeltes Verfahren basierend auf Nanopartikelbildung zwischen Heparin- und Protaminmolekülen. Durch Bestimmung der Lichtstreuintensität, der sogenannten *Light Scattering Analysis method*, abgekürzt LiSA, wird der Heparinspiegel bestimmt.

2.2 LABORGERÄTE

2.2.1 AUFBAU DES NEUEN HEPARINMESSGERÄTES

Das neu entwickelte Gerät besteht vereinfacht wie in Abbildung 2.1 gezeigt aus einer Lichtquelle, einer intensitätsmodulierten roten Leuchtdiode (LED) mit einer Emissionsbande um 635 Nanometer (nm). Dies wurde so ausgewählt um störende Absorption in der Blutprobe durch Spuren von freiem Heparin im Plasma zu vermeiden. Außerdem enthält das Messgerät 2 Detektoren, nämlich 2 Photodioden, die bei 45° und 135° verwendet werden, um die Vorwärts- und Rückstreuung separat zu messen. Die Intensität der Vorwärtsstreuung liefert Informationen über die Menge der lichtstreuenden Partikel; aus dem Quotienten der Intensitäten bei 45 ° und bei 135 ° kann die Partikelgröße abgeschätzt werden, beispielsweise um die Entwicklung der Partikelbildung zu verfolgen [50].

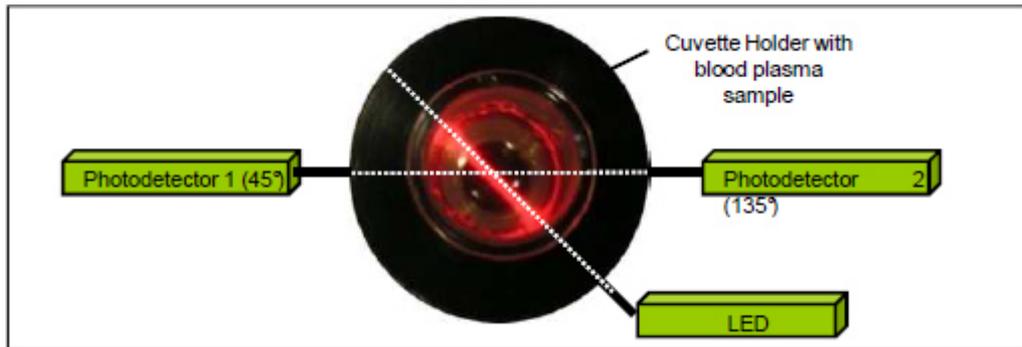


Abb. 2.1: Aufbau der neuen LiSA-Mehtode. Zur Verfügung gestellt von den Entwicklern des Institutes für Biophysik an der Goethe Universität Frankfurt am Main. Prof. Mäntele.

2.2.2 MESSPRINZIP DER NEUEN METHODE

Das Licht aus der Lichtquelle kollidiert auf dem Küvettenhalter mit dem enthaltenen zentrifugierten Blutplasma (Abbildung 2.1). Durch Gabe von positivgeladenen Protamin zu dem stark negativ geladenen Heparin im Blutplasma entstehen spontan Nanopartikel-Komplexe (Abbildung 2.2) und es tritt Trübung in der Probe auf. Diese Nanopartikel haben einen Durchmesser von 60-100 nm und können mit dem Atomkraftmikroskop sichtbar gemacht werden. So wird das Licht in einem Winkel von 45° bzw. 135° gestreut und durch Photodioden erfasst. Je mehr Heparin in der Plasmaprobe ist, desto höher ist die Streuintensität bei 45° . Somit ist es möglich, die Heparin-Konzentration in der Plasmaprobe aus der Streuintensität zu berechnen.

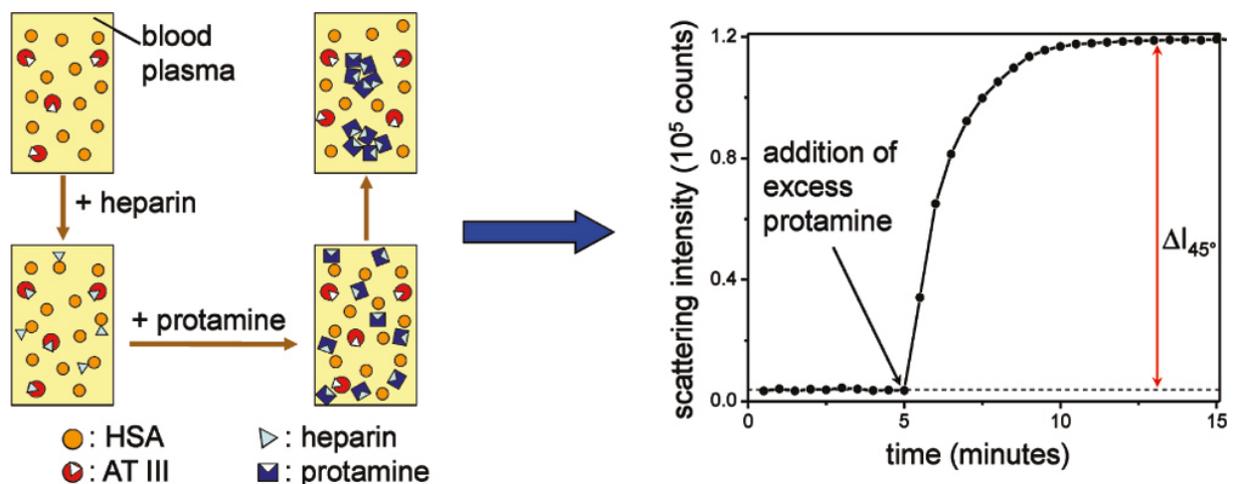


Abb. 2.2 : schematische Darstellung zur Bildung von Nanopartikelkomplexen zw. Heparin und Protamin und der Kurvenverlauf mit der neuen Messmethode LiSA [50]. HSA: Human serum Albumin. AT III: Antithrombin 3.

Abbildung 2.3 zeigt die starke Korrelation zwischen der neuen Heparin-Messmethode LiSA-H und der im Labor Standardmessmethode *Prothrombinase induced clotting time* „PiCT Methode“. Diese Korrelation macht die neue LiSA Messmethode zu einem fähigen Verfahren zur geplanten klinischen Validierung bei unserem Patientenkollektiv mit angeborenen Herzfehlern.

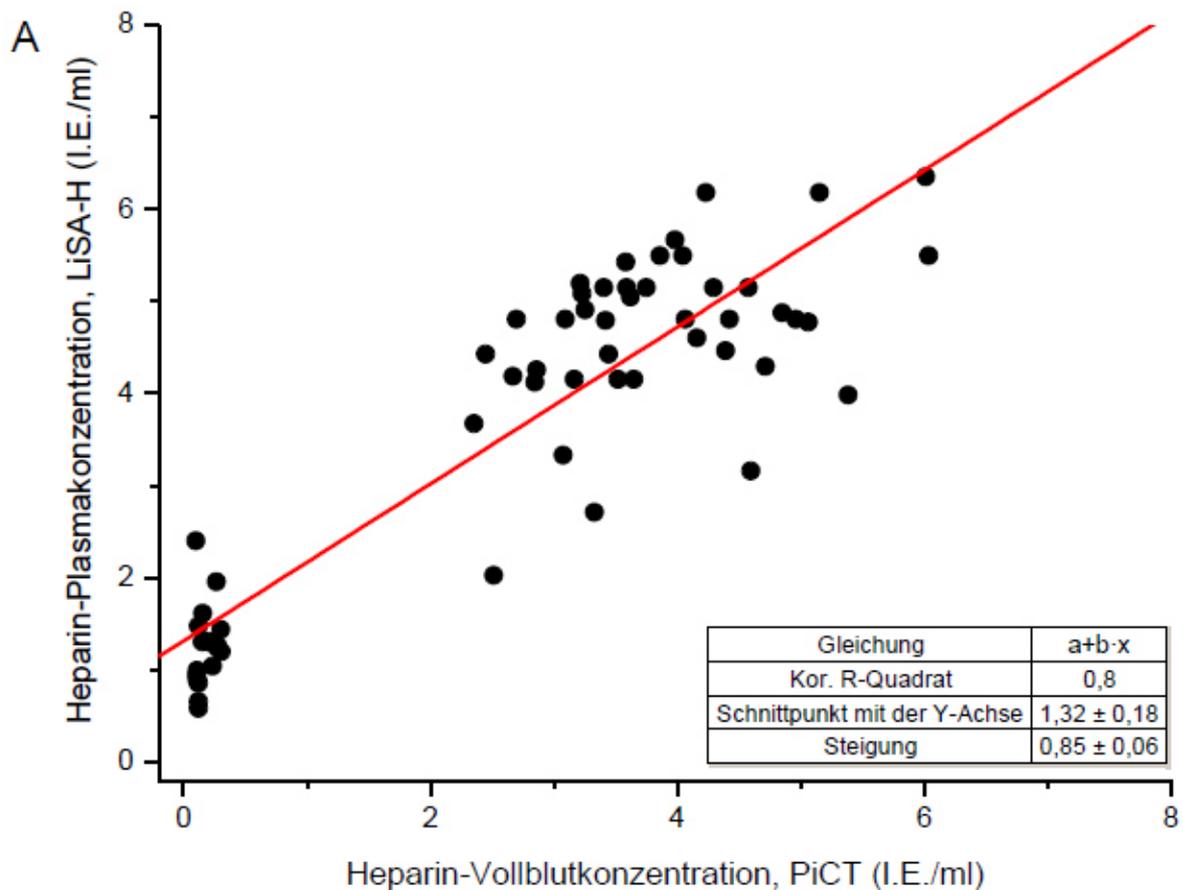


Abb. 2.3: Korrelation zwischen Heparinkonzentrationen im LiSA und PiCT-Verfahren[71].

2.2.3 COMPUTERSOFTWARE

Ein Laptop mit einer speziellen von den Entwicklern des Institutes für Biophysik an der Goethe Universität Frankfurt am Main entwickelten Software wurde eingesetzt, um das neue Messverfahren zu steuern. Diese Software liefert die Pulse für die Steuerung der LED und analysiert die Streulichtintensitäten bei 45° und 135° . In diesem Programm können Kalibrierkurven, beispielsweise für nieder- oder hochmolekulare Heparine, abgelegt werden. Mit dieser Kalibrierung kann die

Heparinkonzentration der Blutprobe etwa 10 Minuten nach der Blutentnahme quantitativ bestimmt und ermittelt werden.

2.2.4 ZENTRIFUGE

Um möglichst klares heparinisiertes Blutplasma zu isolieren, wurde für die Studie eine Zentrifuge mit 2000 Umdrehungen pro Minute für insgesamt 10 Minuten eingesetzt. So konnte klares Plasma gewonnen werden. Dies wurde der Lichtquelle nach Gabe von Protamin und Bildung von Nanokomplexen ausgesetzt und anhand der Lichtstreuung mit der speziellen Computersoftware präzise erfasst.

2.2.5 WEITERE MATERIALIEN

Das in dieser Studie verwendete Heparin war das herkömmliche am Uniklinikum Giessen eingesetzte Heparin-Natrium-ratiopharm® (25000 IE Durchstechflaschen) von der Firma Ratiopharm (1ml entspricht 5000 IE). Zur Antagonisierung von Heparin wurde das Protaminhydrochlorid® (Protamin, MEDA Pharma GmbH & Co KG, Bad Homburg) 1:1 zur der Summe der verwendeten Heparindosen verwendet. Das jeweils am Patienten abgenommene Blutvolumen von 1,2 ml wurde in Citrat-Röhrchen mit einem maximalen Volumen von 1,3 ml gefüllt. Diese Citratröhrchen sollten eine Gerinnung der Blutprobe bis zum Zentrifugieren und Analysieren der Proben verhindern. Weiterhin wurden vorkalibrierte Pipetten zur Entnahme von 475 Mikroliter (μ l) von zentrifugiertem Plasma verwendet, die Protamin-Titrierung dazu wurde mit 17,5 μ l Protaminsulfat durchgeführt [63, 64]. Des Weiteren wurden Glasküvetten zur Probenmessung im LiSA-Messgerät verwendet.

2.3 METHODE

2.3.1 ACT MESSUNG

Die jeweiligen Blutproben für diese Studie wurden simultan zu jeder ACT Messung entnommen und analysiert. Die ACT Messung wurde vom Anästhesisten mit dem Gerät *Hemochron® Junior Signature* (ITC, Edison, USA) durchgeführt. Dieses Gerät misst ACT Zeiten bis max. 1000 Sekunden. In den pädiatrischen herzchirurgischen Eingriffen in dieser Studie wurde standardmäßig die erste ACT-Bestimmung vor Gabe von Heparin zu Beginn des Hautschnittes bestimmt. Diese sollte den Ausgangswert der ACT liefern. Die nächste ACT-Bestimmung erfolgte etwa 5 Minuten nach der Gabe von unfraktioniertem Heparin. Erst wenn diese ACT-Messung sich in einem therapeutischen Bereich von über 450 Sekunden befand, konnte der HLM-Bypass gestartet werden. Danach wurde die ACT-Kontrolle alle 20-30 min. bis zum Abgang von der Herz-Lungen-Maschine durchgeführt. Die letzte ACT Messung erfolgte etwa 5 min. nach der Heparinantagonisierung mit Protamin. Sollten die ACT Messungen während des HLM-Bypasses unter dem therapeutischen Bereich gelegen haben, wurde dann zusätzlich Heparin verabreicht. Wenn nach der Protaminisierung die Ausgangs-ACT nicht erreicht war, wurde Protamin nachgegeben und erneut die ACT gemessen.

2.3.2 ABLAUF DER MESSUNG

Jedes Mal wenn die ACT bestimmt wurde, wurde aus derselben Probe ein Blutvolumen von etwa 1,2 ml entnommen und in ein Citrat-Röhrchen gefüllt. Diese Probe wurde dann mit der Zentrifuge bei 2000 Umdrehungen/min., 10 min. lang abzentrifugiert. Danach wurde aus der zentrifugierten Probe 475 µl klares Plasma mit einer auf dieses Volumen vorkalibrierten Pipette abpipettiert. Dieses Volumen wurde dann in eine Glasküvette gegeben und ins Messgerät gestellt. Mit der Computersoftware wurde dann der Test begonnen und Verlaufskurven erstellt. Nach einer kurzen Wartezeit von etwa 1 min. stellte sich eine Grundstreuung ein und es wurden 17,5 µl Protamin pipettiert und zur Messprobe gegeben. Der Kurvenverlauf von Testbeginn bis Ende wurde fortlaufend auf dem Computerschirm mithilfe der Software dokumentiert.

Von nun an wurde etwa 15-20 min. gewartet bis der Kurvenverlauf ein Plateau erreichte. Die Kurvenverläufe so wie die erhobenen Daten zu jedem Zeitpunkt der Messung von jedem Patienten wurden dann abgespeichert und später separat

analysiert. Am Ende jeder Messung wurde ein dimensionsloser Lichtstreuungswert ermittelt und dokumentiert.

Je nach OP-Dauer wurden im Durchschnitt 7-8 LiSA-Messungen parallel zur ACT Messung durchgeführt.

2.4 PATIENTENDATEN

Insgesamt wurden im Rahmen dieser Studie 30 Patienten, die einer Herzoperation mit Hilfe der HLM unterzogen wurden, im Alter zwischen 4 Tagen und 22 Jahren eingeschlossen.

Das Standard Regime zur Antikoagulation und Gerinnungsmanagement vor Anschluss an der HLM in unserem Hause sieht wie folgt aus:

Kinder mit einem **Körpergewicht (KG) von < 10 kg** erhielten in ihr *Primingvolumen* (mit Primingvolumen bezeichnet man das zirkulierende Volumen in der Herz-Lungen-Maschine vor Bypassbeginn) 1 Erythrozytenkonzentrat (EK, dies entspricht ein Fremdblutvolumen von 250 ml), 1 Frischplasmakonzentrat (FFP, 250ml) und in der Regel 7500 IE Heparin. Diese Kinder wurden initial mit 800 IE /kg KG Heparin antikoaguliert.

Im Allgemeinen liegt das Primingvolumen der Kinder mit einem Körpergewicht < 10 kg zwischen 350 bis 1000 ml, bestehend hauptsächlich aus 150 ml 20%-iger Humanalbumin, Kristalloide Lösungen (500 ml Ringer), 3 ml / kg KG Mannit, 10 ml Calcium 10% und 20 ml Natriumbicarbonat (je nach Base excess). Würde man z.B. bei einem Kind mit einem Körpergewicht von 5 kg und dementsprechend ein Eigen-Blutvolumen von etwa 400 ml die HLM ohne weitere Blutprodukte starten, würde es zu einer starken Dilution führen. Das konnten Sniecinski R et al. [95] in ihrer Arbeit zeigen. Dabei wurden die gemessenen und simulierten Verdünnungen bei Erwachsenen und bei Säuglingen mit Körpergewicht von etwa 3 kg wie in Abbildung 2.4 dargestellt, ermittelt. Die rote Linie zeigt die simulierte Dilution bei Erwachsenen, die blaue bei Säuglingen. Nach Beginn des HLM-Bypasses würde demzufolge die Dilution bei Säuglingen auf 50% sinken.

Daher wird standardmäßig immer ein EK und ein FFP zusätzlich zum Primingvolumen zugegeben um die starke Dilution zu verringern und das Vollblut des

Kindes zu rekonstruieren und zu imitieren. Die Erhöhung des Primingvolumens mit einem zusätzlichen EK und einem FFP bei Kindern mit einem Körpergewicht von < 10 kg ist in unserem Zentrum der Grund für die initiale Heparin-gabe von 800 IE/kg Körpergewicht. Zudem gehört auch die gute Erfahrung über die Jahre mit diesem Antikoagulationsregime.

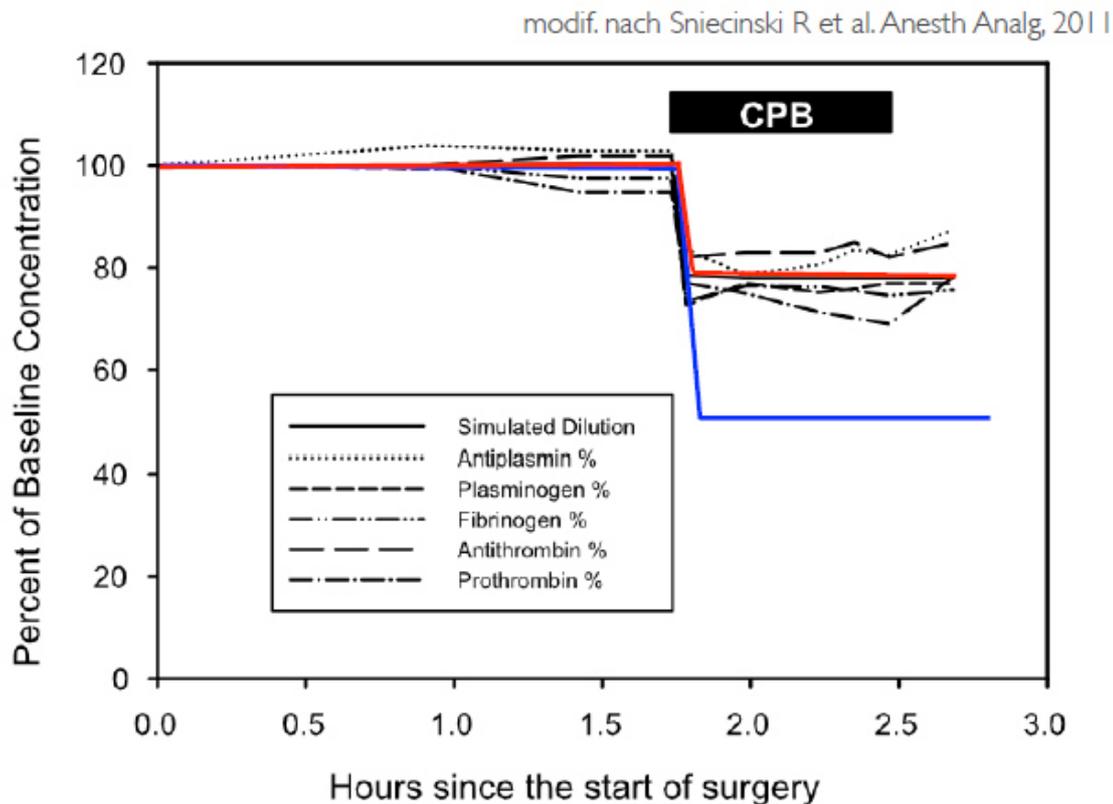


Abb. 2.4: Auswirkung der HLM auf die Dilution. modif. nach Sniecinski R et al. [95]. Rote Linie: simulierte Dilution der Erwachsenen, die blaue der Säuglingen.

Kinder mit einem **Körpergewicht > 10 kg** bekamen lediglich 2500 IE Heparin in das Primingvolumen der HLM ohne Gabe von Blutprodukten. Diese Patienten wurden initial mit 400 IE/kg KG Heparin antikoaguliert.

Die Tabelle 2.1 zeigt das Patientenkollektiv der Probanden.

	Mittelwert	Minimum	Maximum
Anzahl der Patienten	30		
Alter	3,8 ± 6	4 Tage	22 Jahre
Gewicht (kg)	15 ± 17	2,3	58
Größe (cm)	85 ± 41	47	173
Geschlecht	21		
männlich			
weiblich	9		

Tab. 2.1: Patientenkollektiv

2.4.1 EIN- UND AUSSCHLUSSKRITERIEN

Die Einschlusskriterien für diese experimentelle Studie waren:

1. Elektiv geplante Herz-OP mit Hilfe der Herz-Lungen-Maschine und voller Heparinsierung.
2. Schriftliche Aufklärung und Zustimmung des Patienten bzw. der Eltern.
3. Alter < 25 Jahren.

Die Ausschlusskriterien:

1. Notfall-Operation.
2. Teilnahme an einer anderen Studie.

Diese Studie wurde am 06.05.2010 von der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Justus-Liebig-Universität Gießen beraten und genehmigt (AZ: 59/10).

2.4.2 AUFKLÄRUNG DER PATIENTEN

Im Anhang sehen Sie die bei den Patienten bzw. ihren Eltern durchgeführte Aufklärung mit Patienteninformationsblatt und Einwilligungserklärung. Es wurden alle Patienten in dieser Studie aufgeklärt. Ihre Einverständniserklärungen oder ihrer Eltern liegen vor.

2.4.3 DURCHGEFÜHRTE OPERATIONEN

Durchgeführte Operationen bei Kindern	Anzahl
TGA	3
TGA in Kombination [°]	2
Korrektur einer kongenitalen Gefäßanomalie ^{°°}	6
Korrektur einer Tetralogie nach Fallot	4
Korrektur eines VSD	1
BCPC (Bidirectionale cavo-pulmonale connection / Glenn-Anastomose)	2
TCPC (Totale cavo-pulmonale connection / Fontan-Komplettierung)	3
TCPC in Kombination ^{°°°}	1
Aortenklappen-Rekonstruktion	1
Aortenklappen-Rekonstruktion in Kombination ^{°°°°}	1
Korrektur eines hypoplastischen Aortenbogen	1
Aortopulmonaler-Shunt bei Pulmonalisatresie und VSD	1
Pulmonalklappen-Ersatz	2
Pulmonalklappen-Ersatz in Kombination mit ^{°°°°°}	2

[°] Korrektur einer Transposition der großen Arterien (Arterielle Switch-Operation) in Kombination mit:

- Korrektur eines ASD (Atrium-Septum-Defekt) und Verschluss des Ductus arteriosus Botalli (1)
- Korrektur eines VSD (Ventrikel-Septum-Defekt) und Verschluss des Ductus arteriosus Botalli (1)

^{°°} Korrektur einer kongenitalen Gefäßanomalie:

- Korrektur einer Aortenisthmusstenose und eines VSD (1)
- Aortenbogenrekonstruktion und Verschluss des Ductus arteriosus Botalli (1)
- Korrektur eines Unterbrochenen Aortenbogen und eines VSD und eines ASD und Verschluss des Ductus arteriosus Botalli (1)
- Korrektur eines Truncus arteriosus communis (1)
- Aorta ascendens Erweiterungsplastik mit Koronaristhmus-Rekonstruktion (1)
- Korrektur einer Lungenvenenfehlmündung und eines ASD und Verschluss des Ductus arteriosus Botalli (1)

^{°°°}TCPC in Kombination mit:

- Trikuspidalklappen-Rekonstruktion (1)

^{°°°°}Aortenklappen-Rekonstruktion in Kombination mit:

- Korrektur eines ASD

^{°°°°°}Pulmonalklappen-Ersatz in Kombination mit:

- Verschluss des Ductus arteriosus Botalli (1)
- Mitralklappen-Rekonstruktion (1)

Tab. 2.2: durchgeführte Operationen

2.4.4 PRÄOPERATIV ERHOBENE PATIENTENDATEN

Bei allen Patienten wurde ein Tag vor der geplanten Herz-OP eine laborchemische Kontrolle des Blutbildes und der Gerinnung durchgeführt. Keiner der Patienten hatte in seiner Anamnese eine bekannte Gerinnungsstörung oder Krankheiten des Blutbildungssystems. Die unten stehende Tabelle zeigt die präoperativ erhobenen Patientendaten bezogen auf die Gerinnungs- und Blutbildsituation:

	Patienten < 10kg Körpergewicht (n = 18)			Patienten > 10kg Körpergewicht (n = 12)		
Parameter	Min.	Max.	Mittelwert	Min.	Max.	Mittelwert
Quick (%)	61	110	81,5	52	110	82
INR	1	1,4	1,1	1	1,5	1,25
Fibrinogen(g/l)	1,54	2,53	2,03	1,5	3,29	2,38
AT III (%)	40	117	78,5	62	112	86,6
aPTT (sek.)	32	60	41,6	29	62	39,4
Hb (g/l)	113	210	140,5	99	175	142,1
Hk (l/l)	0,33	0,57	0,40	0,29	0,48	0,40
Creatinin (mg/dl)	0,2	0,7	0,37	0,2	1,0	0,45

Tab. 2.3: präoperative Laborwerte der Patienten (INR: International Normalized Ratio, AT III: Antithrombin III, aPTT: aktive Partielle Thromboplastinzeit, Hb: Hämoglobin, Hkt: Hämatokrit).

3 Ergebnisse

3.1 INTRA- UND POSTOPERATIV ERHOBENE PATIENTENDATEN

Der primäre Endpunkt dieser Studie war es, die Korrelation zwischen den Heparinkonzentrationen im Blut, gemessen mit dem neuen Heparinmessverfahren (LiSA-Methode) und den ACT-Werten aus den selben Proben, ermittelt mit dem Standard Gerät Hemochron® Junior, zu zeigen. Außerdem sollten die Blutungskomplikationen in Zusammenhang mit unpassender Gerinnung intra- und postoperativ gezeigt werden.

Im Wesentlichen wurden folgende Ergebnisse bei dieser Studie festgestellt:

- In den beiden Verfahren herrschten in etwa **einem Drittel** der Fälle synchrone Verläufe der beiden Messmethoden. D.h. immer wenn der Heparinspiegel, gemessen mit der LiSA-Methode, einen Anstieg zeigte (bedingt durch Heparinabgabe zum Anschluss an der HLM oder Weitergabe von Heparin bei niedrigen ACT-Werten während der Herz-OP), wurde mit dem Hemochron® Junior ein dementsprechend erhöhter ACT-Wert dokumentiert. Immer wenn es zu einem Abfall der ACT durch die Elimination von Heparin aus dem Blut oder durch Antagonisierung mit Protamin kam, wurde gleichzeitig ein Abfall der Heparinkonzentration in derselben Probe festgestellt. Wir sprechen in diesem Fall von synchronem Verlauf zwischen beiden Kurven.
- In knapp **zwei Dritteln der Fälle** bestand keine Korrelation zwischen den Heparinspiegeln und den entsprechenden ACT-Werten. Diese ergaben sich zu 74% aus den OP-Verläufen, in denen vor allem *fehlerhafte* ACT-Zeiten von mehr als 1000 Sekunden auftraten (siehe Abbildung 3.32). In diesem Fall sprechen wir von asynchronem Verlauf beider Kurven. Als fehlerhafter ACT-Wert wurde bei dieser Studie der ACT-Wert > 1000 sek. definiert (*out of range Messung*).

- Insgesamt wurden bei dieser Studie bei allen Patienten 210 Messungen mit der LiSA-Messmethode parallel zum ACT durchgeführt. Es kam in 41 ACT-Messungen zu „*Fehlern*“ (ACT > 1000 sek.) D.h. in 20% der ACT-Messungen konnte keine Aussage über den tatsächlichen Gerinnungszustand des Patienten getroffen werden.
- Als weiteres Ergebnis dieser Studie wurde bei den untersuchten Kindern eine **Heparin-Halbwertzeit zwischen 75-194 Minuten** festgestellt. Die nachfolgende Abbildung 3.1 zeigt die Heparinclearance mit der niedrigsten und höchsten Halbwertzeit bei 5 verschiedenen Kindern, die während der Operation mindestens 3 mal in Folge keine Nachdosierung von Heparin erhielten, bei therapeutisch gut erhaltenen ACT Werten:

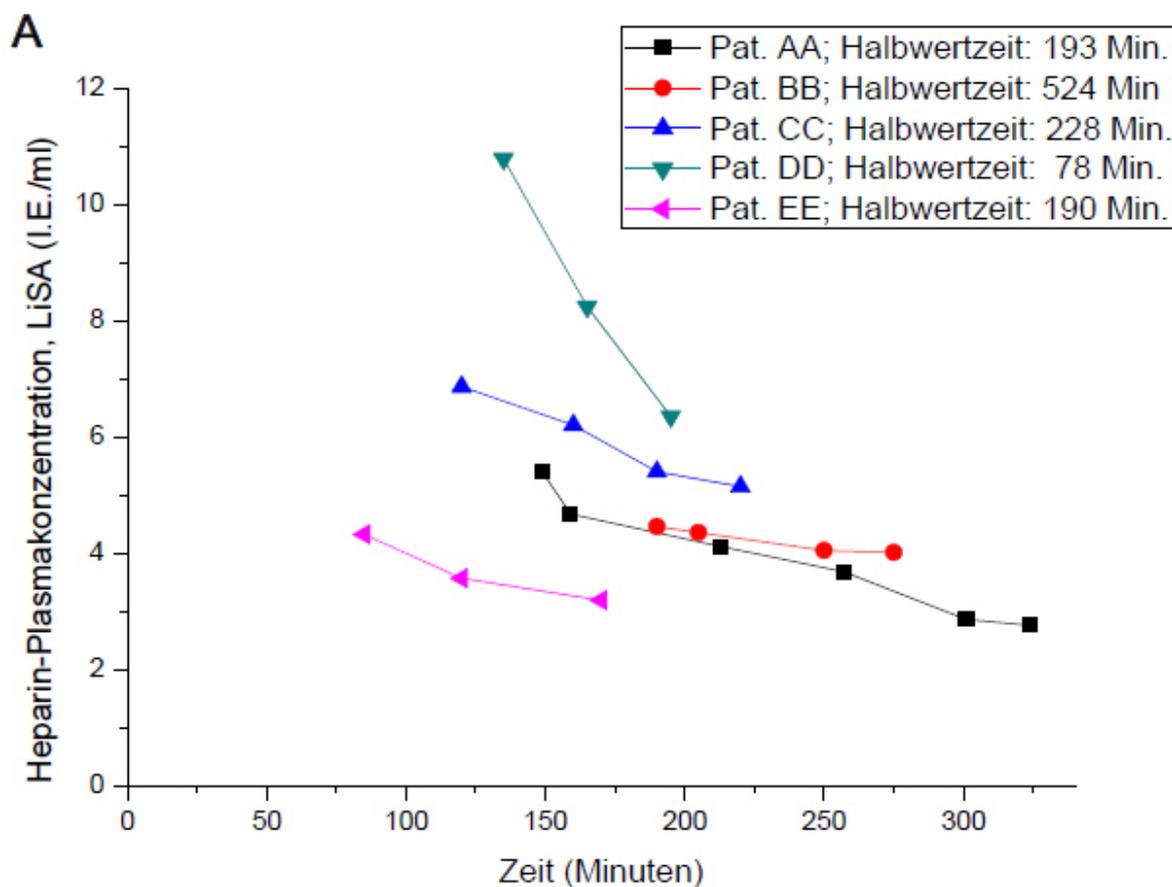


Abb. 3.1: Heparin-Halbwertzeiten bei den Kindern.

- Bei 6 Kindern (20% aller operierten Kinder) kam es postoperativ (innerhalb von 48 Stunden) zu einer Re-Operation (Rethorakotomie) aufgrund von

verstärkten Blutungen verbunden mit entsprechender Perikardtamponade und zunehmender hämodynamischer Instabilität. Eine chirurgische Blutungsquelle wurde bei allen 6 Kindern ausgeschlossen. Die Blutung zeigte sich diffus aufgrund von schlechter Gerinnungssituation. Von den 6 rethorakotomierten Kindern wiesen 5 Kinder ein Körpergewicht < 10 kg auf.

3.2 POSTOPERATIVE NACHBLUTUNG UND GABE VON BLUTPRODUKTEN SOWIE FLÜSSIGKEITSBILANZ

Die Tabellen 3.1 und 3.2 zeigen die postoperativen Blutungsmengen bei den Kindern in dieser Studie, welche in 2 Gruppen aufgeteilt wurden: Kinder mit einem Körpergewicht < 10 kg und Kinder mit einem Körpergewicht > 10 kg, sowie die entsprechenden Flüssigkeitsbilanzen. Abhängig vom Körpergewicht, hat die Blutungsmenge unterschiedliche Auswirkung auf die hämodynamische Situation: ein Kind, das etwa 30 kg schwer ist, würde den Verlust von 200 ml Blut postoperativ kreislaufmäßig und hämodynamisch besser verkraften als ein Kind, das gerade 5 kg schwer ist.

	Patienten < 10 kg Körpergewicht			Patienten > 10 kg Körpergewicht		
	Mittelwert ± S	Min.	Max.	Mittelwert ± S	Min.	Max.
Postoperative Blutung (Drainage-Verlust in ml)	136 ± 93	15	330	368 ± 116	230	520
Postoperative Blutung (Drainage-Verlust in ml/kgKG)	33 ± 24	2,4	56,5	17 ± 13	9	35
Erythrozytenkonzentrate (ml)	63 ± 66	0	190	105 ± 138	0	350
Thrombozytenkonzentrate (ml)	8 ± 18	0	50	33 ± 92	0	300
Plasmakonzentrate (ml)	111 ± 126	0	480	179 ± 261	0	700

Tab. 3.1: postoperative Nachblutungsmengen, S: Standardabweichung.

	Patienten < 10 kg Körpergewicht			Patienten > 10 kg Körpergewicht		
	Mittelwert ± S	Min.	Max.	Mittelwert ± S	Min.	Max.
Einfuhr (ml)	1.355 ± 256	916	1.793	2.421 ± 1.453	1.274	6.370
Ausfuhr (ml)	1.644 ± 312	1.140	2.215	2.344 ± 1.358	740	6.400
Bilanz (ml)	-289 ± 161	-157	-708	77 ± 637	1.892	-388
Bilanz (ml/kg KG)	-66 ± 29	-24	-134	-2,7 ± 19	33	-34

Tab. 3.2: Flüssigkeitsbilanzen der operierten Kinder.

3.3 PERIOPERATIVE DATEN DER ANTIKOAGULATION

Die Tabelle 3.3 zeigt die perioperativen Daten der Antikoagulation mit Erfassung der ACT-Zeiten zu Beginn der Operation vor der Heparinisierung. Ferner wurden die verabreichten Heparinmengen prä- und intraoperativ und die entsprechenden Heparinkonzentrationen mittels LiSA-Methode erfasst. Der Vorgang erfolgte bis hin zur Antagonisierung mit Protamin und der abschließenden Ermittlung der ACT-Zeiten und der Heparinkonzentrationen. Es erfolgte die Einteilung der Kinder in 2 Gruppen je nach Körpergewicht aufgrund der verschiedenen Primingsvolumina sowie der Anfangs Heparindosen pro kg KG (siehe Patientendaten in Kapitel 1.10).

Wesentliche Daten wurden erhoben:

- Kinder mit einem KG < 10 kg zeigten zu Beginn der OP verglichen mit den Kindern mit einem KG > 10 kg keinen signifikanten Unterschied bezogen auf die ACT Zeiten. Auch die entsprechend gemessenen Heparinkonzentrationen zeigten keinen Unterschied in beiden Gruppen (im Schnitt etwa 1,1 Heparin IE/ml Blut).

-
- Nach der Heparinisierung war die Heparinkonzentration bei den Kindern mit < 10 kg KG im Schnitt $10 \pm 3,9$ IE/ml. Bei den Kindern > 10 kg KG waren es $5,8 \pm 2,9$ IE/ml.
 - Die meisten Kinder mit einem KG < 10 kg erreichten schnell „fehlerhafte“ ACT Zeiten > 1000 sek. nach der ersten Heparinisierung und behielten diesen Wert bis zur Antagonisierung mit Protamin. Die Kinder in dieser Gruppe bekamen deshalb weniger Heparin als Nachdosierung verglichen mit den Patienten mit Körpergewicht > 10 kg (1429 ± 345 IE vs. 10107 ± 7280 IE).
 - Die ACT-Zeiten nach der Protaminisierung lagen bei den Kindern mit KG < 10 kg bei 117 ± 14 Sek. Die entsprechende Heparinkonzentration war $1,9 \pm 1,8$ IE/ml verglichen mit ACT Zeiten von 126 ± 16 und Heparinkonzentration von $1,1 \pm 0,3$ IE/ml in der Gruppe mit KG > 10 kg höher.
 - Interessant war die Abschluss-Heparinkonzentration in beiden Gruppen, denn sie lag bei den Kindern mit einem Körpergewicht < 10 kg bei $2 \pm 1,8$ IE/ml und bei der anderen Gruppe bei $0,9 \pm 0,1$ IE/ml.

	Patienten < 10 kg Körpergewicht			Patienten > 10 kg Körpergewicht		
	Mittelwert	Min.	Max.	Mittelwert	Min.	Max.
ACT vor Heparinisierung (sek.)	115 ± 12	95	144	118 ± 13	104	140
[Heparin] vor Heparinisierung (I.E./ml)	1,1 ± 0,7	0,7	2,5	1,1 ± 0,2	0,6	1,5
Initial Heparin (I.E.)	3.888 ± 1.448	1.000	6.000	12.958 ± 6.580	5.000	25.000
ACT nach Heparinisierung (sek.)	719 ± 227	369	1000	622 ± 309	115	1000
[Heparin] nach Heparinisierung (I.E./ml)	10 ± 3,9	3,2	18,4	5,8 ± 2,9	0,7	10,5
Heparin Nachdosierung (I.E.)	1.429 ± 345	1.000	2.000	10.107 ± 7.280	3.750	25.000
ACT vor Protaminisierung (sek.)	776 ± 210	464	1000	680 ± 241	445	1000
[Heparin] vor Protaminisierung (I.E./ml)	3,9 ± 1,2	2,2	6,1	3,3 ± 0,8	1,9	4,6
Initial Protamin (I.E.)	13.722 ± 1.965	10.000	15.000	25.000 ± 14.771	10.000	60.000
ACT nach Protaminisierung (sek.)	117 ± 14	96	152	126 ± 16	107	174
[Heparin] nach Protaminisierung (I.E./ml)	1,9 ± 1,8	0,6	7,3	1,1 ± 0,3	0,8	1,6
Protamin Nachdosierung (I.E.)	2.200 ± 274	2.000	2.500	3.643 ± 1.930	2.500	7.500
Abschluss-ACT (sek.)	113 ± 15	82	140	117 ± 10	95	134
Abschluss [Heparin] (I.E./ml)	2 ± 1,8	0,6	7,3	0,9 ± 0,1	0,7	1,2

Tab. 3.3: Perioperative Daten der Antikoagulation.

3.4 ÜBEREINSTIMMUNG VON HEPARINKONZENTRATIONEN UND ACT-ZEITEN (SYNCHRONE KURVEN)

Wie bereits erwähnt kam es bei dieser Studie in nur einem Drittel der 210-Messungen mit der neuen LiSA-Methode und paralleler ACT-Messung zu einem synchronen Kurvenverlauf zwischen der ACT-, und der Heparinkurve. Beide Kurven verhielten sich zu verschiedenen Zeitpunkten synchron zueinander, sei es bei Anstieg durch Heparin-gabe oder bei Abfall durch Clearance von Heparin oder Antagonisierung mit Protamin.

Die meisten Kinder, die solch einen synchronen Verlauf gezeigt haben, zeigten postoperativ einen stabilen Gerinnungsstatus, die Blutungsmengen und Notwendigkeit von Blutprodukttransfusionen waren moderat und als normal anzusehen. Bei nur einem Kind (Pat. Nr. 19) gab es Blutungskomplikationen (siehe weiter unten).

Patient 4 (6,1 kg, 67 cm)

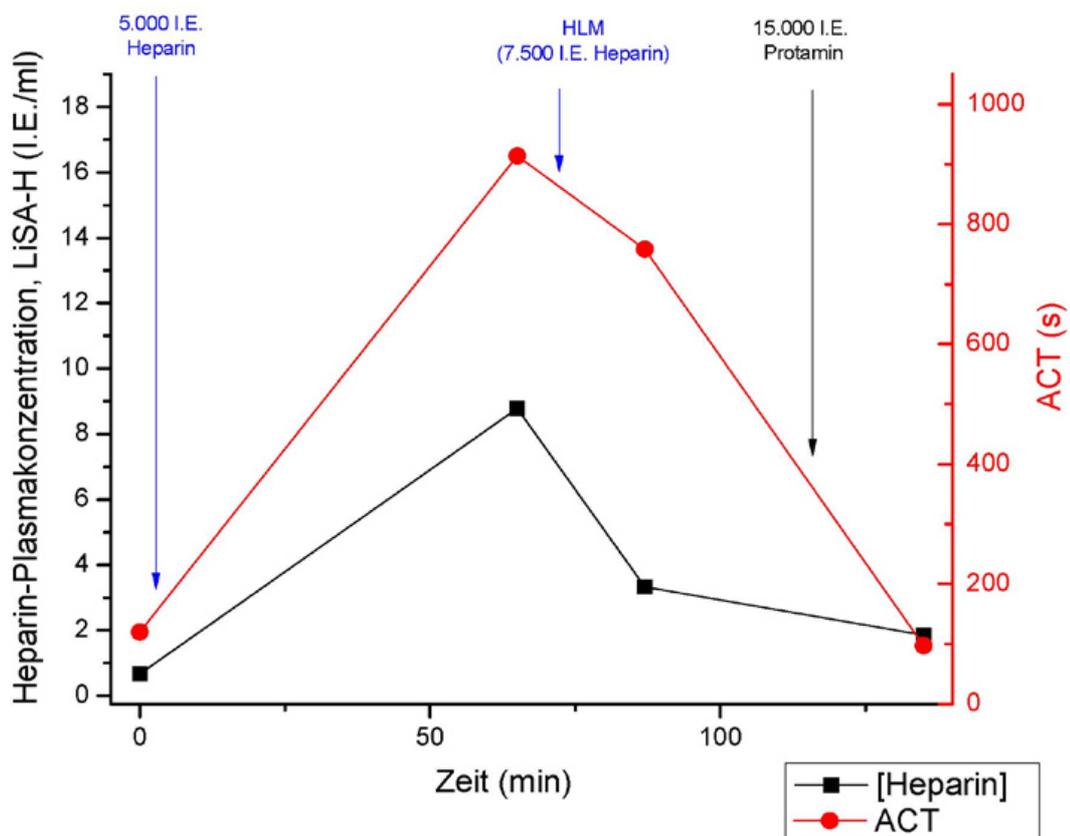


Abb. 3.2: Patient Nr. 4, synchroner Kurvenverlauf zw. ACT und LiSA.

Abbildung 3.2 (Patient Nr. 4) zeigt ein gutes Beispiel für den synchronen Verlauf beider Kurven. Bei diesem Kind (zum Zeitpunkt der Operation etwa 2 Monate alt)

wurde bei einem univentrikulären Herzen eine Glenn-OP (BCPC: bidirectional cavopulmonal Connection) durchgeführt. Die HLM-Bypasszeit betrug 52 Minuten. Man sieht zu Anfang der Operation normale ACT und Heparinkonzentrationen. Danach erfolgt die Gabe von 5000 IE Heparin gewichtsadaptiert wie schon in Kapitel 2.4 erwähnt (800IE Heparin/kg bei Patienten mit einem KG < 10kg → in diesem Beispiel $800 \cdot 6\text{kg} = \text{etwa } 5000 \text{ IE Heparin}$, zusätzlich zum Primingvolumen von 1 EK und FFP mit 7500 IE Heparin in der HLM).

Die danach gemessene ACT lag dann bei 914 Sekunden. Synchron sieht man einen Anstieg der Heparinkonzentration von etwa 0,4 IE/ml auf 9 IE/ml, gemessen mit der diskutierten LiSA-Methode. Da die ACT im therapeutischen Bereich lag, wurde hier kein Heparin nachdosiert. Im weiteren Verlauf kam es nach einer gewissen Halbwertszeit-Zeit (HWZ lag zwischen 75 und 194 Minuten, wie bei dieser Studie herausgefunden wurde, siehe Kapitel 3.1) zum synchronen Abfall der ACT und des Heparinspiegels. Nach Abgang von der HLM erfolgte die Heparinantagonisierung mit Protamin (Dosis von Protamin entsprach den Gesamtdosen der verabreichten Heparinmengen inklusive Heparinmenge im Primingvolumen, in diesem Beispiel etwa 15000 IE Protamin). Die Abschluss-ACT sowie Heparinspiegel zeigten normale nahezu Ausgangswerte. Bei diesem Kind war der postoperative Verlauf regelrecht mit minimalen Draingenverlusten von etwa 20 ml Blut und maximaler Blutgabe von etwa 60 ml. Weitere Transfusionen von Blutprodukten waren nicht nötig.

Patient 21 (16,6 kg, 110 cm)

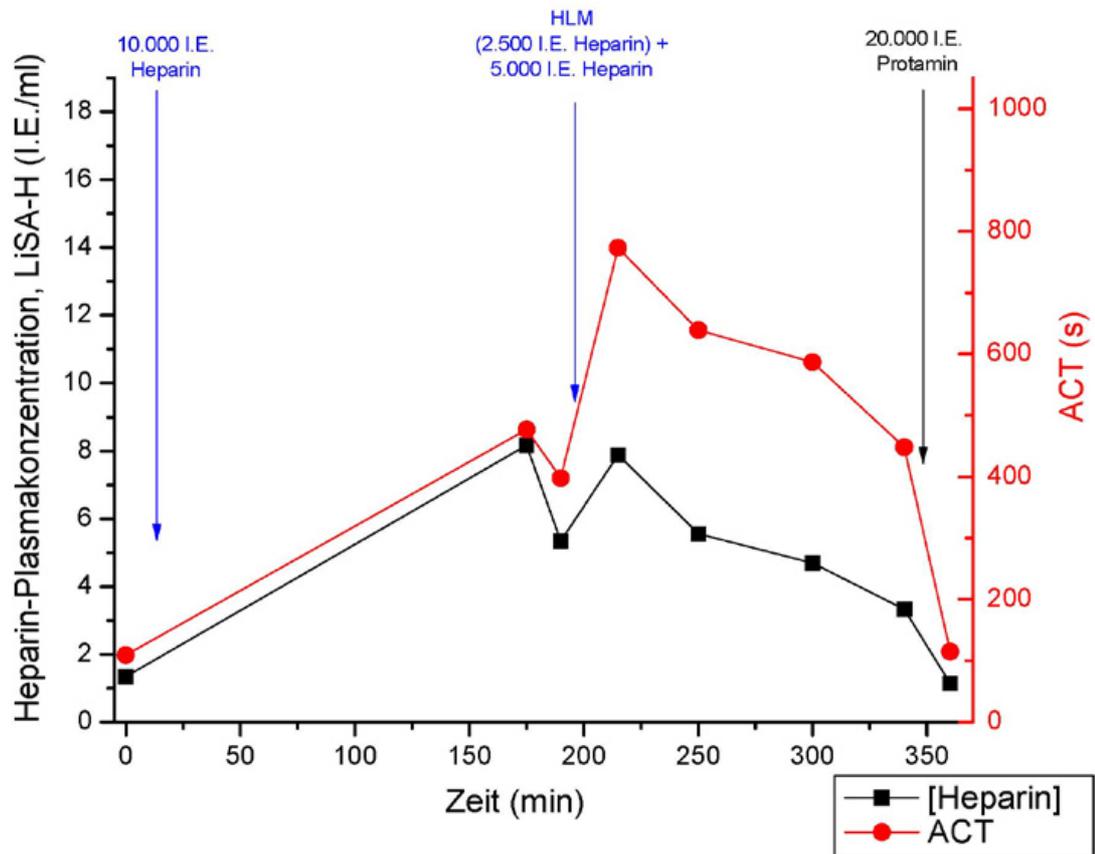


Abb. 3.3: Patient Nr. 21, synchroner Verlauf zw. ACT und LiSA.

Bei diesem Patienten (Nr. 21) wurde eine Aorta ascendens Erweiterung bei einer supraaortalen Stenose durchgeführt. Der Patient wog 16,6 kg daher wurde im Primingvolumen der HLM 2500 IE Heparin gegeben. Zur Heparinisierung wurde Heparin gewichtsadaptiert mit 400 IE/kg KG gegeben. Die HLM-Bypass-Zeit betrug 164 Minuten. Nach der vollen Heparinisierung und kurz vor Bypassbeginn war die ACT unter dem therapeutischen Bereich, der Heparinspiegel war auch synchron niedrig. Es erfolgte die Nachdosierung von 5000 IE Heparin, die ACT stieg auf etwa 790 Sekunden an, simultan wurde ein Heparinspiegelanstieg mit der LiSA-Methode dokumentiert. Auch hier korrelierte die ACT Messung mit dem Heparinspiegel nach weiteren Heparinabgaben intraoperativ mit synchronem Verlauf.

Die Abbildungen 3.4 bis 3.7 zeigen weitere Patienten unterschiedlicher Gewichtsklassen mit synchronem Verlauf beider Kurven:

Patient 1 (48,6 kg, 171 cm)

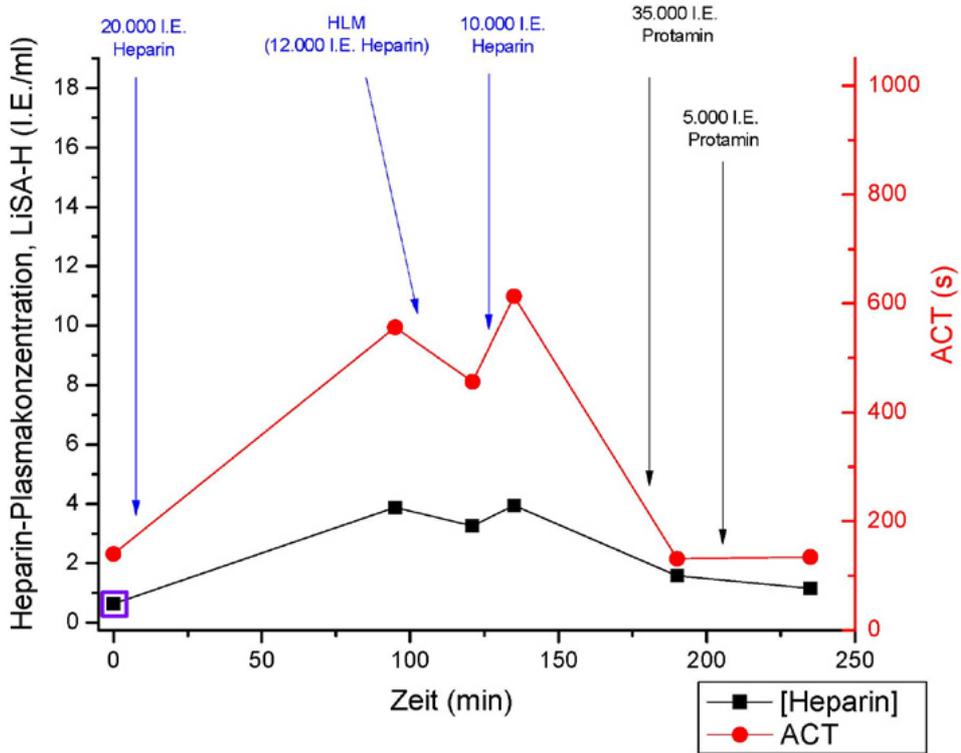


Abb. 3.4: Patient Nr. 1

Patient 2 (6,5 kg, 63 cm)

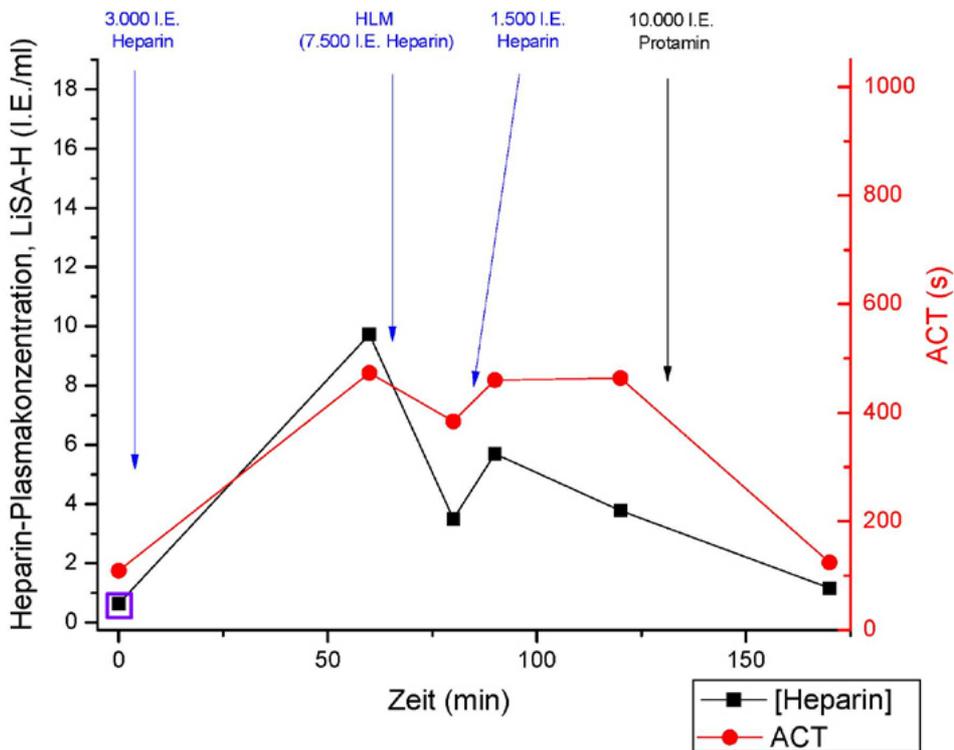


Abb. 3.5: Patient Nr. 2

Patient 17 (17,7 kg, 110 cm)

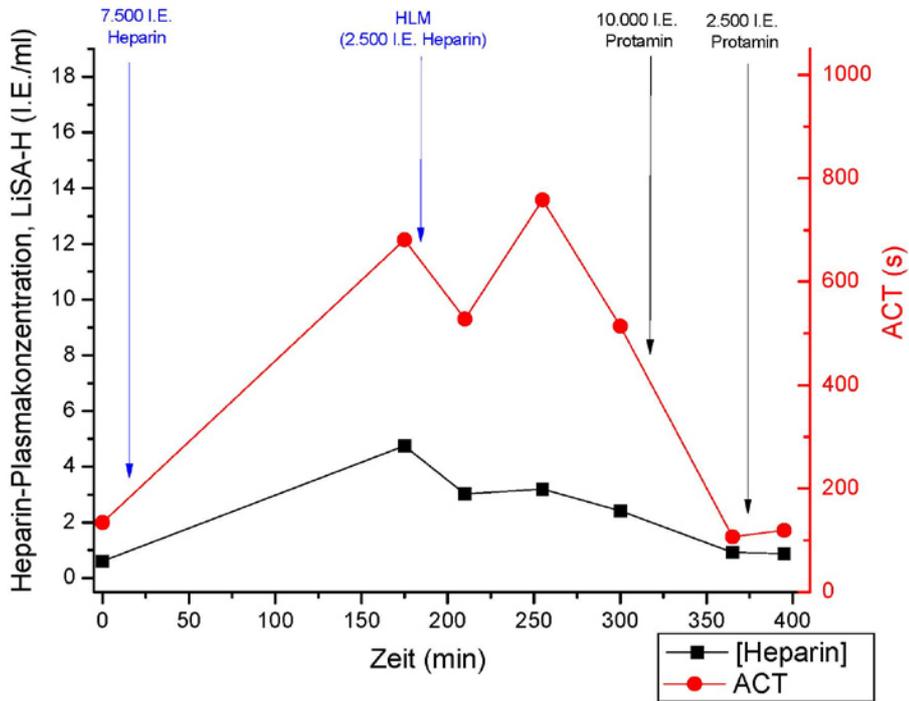


Abb. 3.6: Patient Nr. 17

Patient 24 (56 kg, 173 cm)

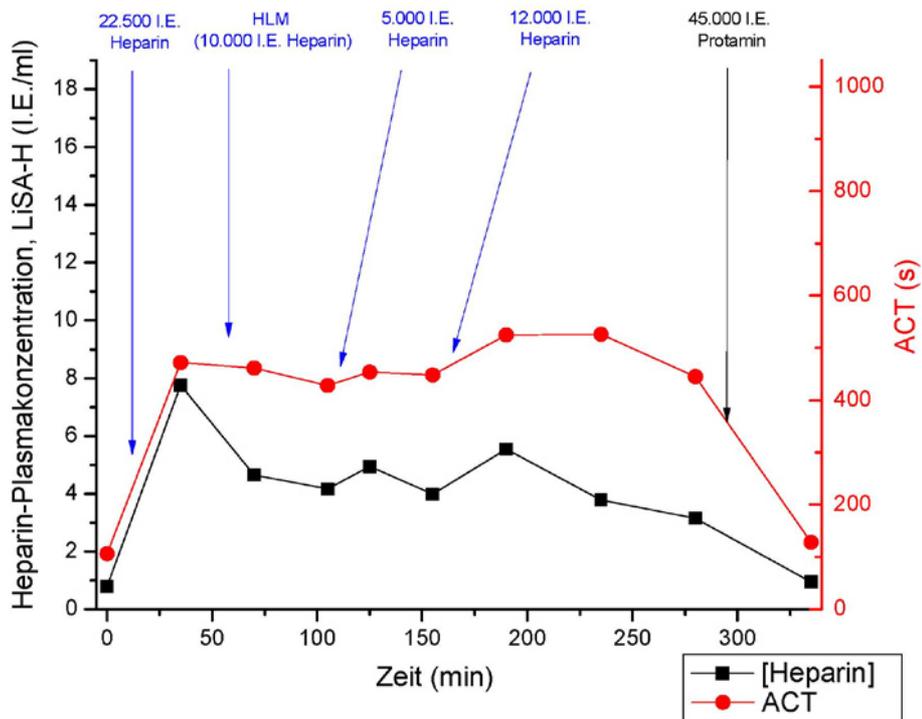


Abb. 3.7: Patient Nr. 24

Insgesamt zeigten die Kinder in dieser synchronen Gruppe einen nahezu normalen postoperativen Verlauf, was die Blutungskomplikationen betrifft. Die Abschluss ACT-Zeit korrelierte gut mit den gemessenen Heparinspiegeln.

Bei nur einem Kind (Patient Nr. 19, siehe entsprechende Abbildung unten) mit synchronem Kurvenverlauf zwischen ACT und Heparinspiegel gab es Blutungskomplikationen mit späterer chirurgischer Revision. Bei diesem Patienten erfolgte eine langwierige Korrektur-OP eines Truncus arteriosus communis mit einer Bypass-Zeit von 197 Minuten. Die Blutung hier bestätigt das hohe Risiko für Blutungen (auch bei synchronem Verlauf) bei Operationen mit langer HLM-Zeit, siehe Abschnitt 3.6.

Intraoperativ, nach Beendigung des HLM-Bypasses und Antagonisierung ausreichend mit Protamin, zeigte sich eine vermehrte diffuse Blutung, daher waren lange Zeiten zur intraoperativen Blutstillung (Zeit zwischen Antagonisierung mit Protamin bis Thoraxverschluss 58 Minuten) nötig. Am Ende der Operation war die Gabe von 100 ml Blutkonzentrat (EK), 60 ml Frischplasma (FFP), 50 ml Thrombozytenkonzentrat (TK) und 150 IE Prothrombinkonzentrat (PPSB) notwendig, um die Blutungs- und Gerinnungssituation unter Kontrolle zu bekommen.

Postoperativ kam es in den folgenden 24 Stunden bei diesem Patienten zu Blutverlust von etwa 200 ml über die Drainagen. Zudem wurden weitere 115 ml EK, 320 ml FFP, 50 ml TK und 7500 IE des rekombinanten humanen Blutgerinnungsfaktors VIIa (Novoseven®) transfundiert. Trotz dieser Maßnahmen kam es nicht zum Sistieren der Blutung und es erfolgte eine Re-OP zur Blutstillung und Perikardentlastung bei Perikardtampnade und instabilem Kreislauf.

Patient 19 (3,2 kg, 49 cm)

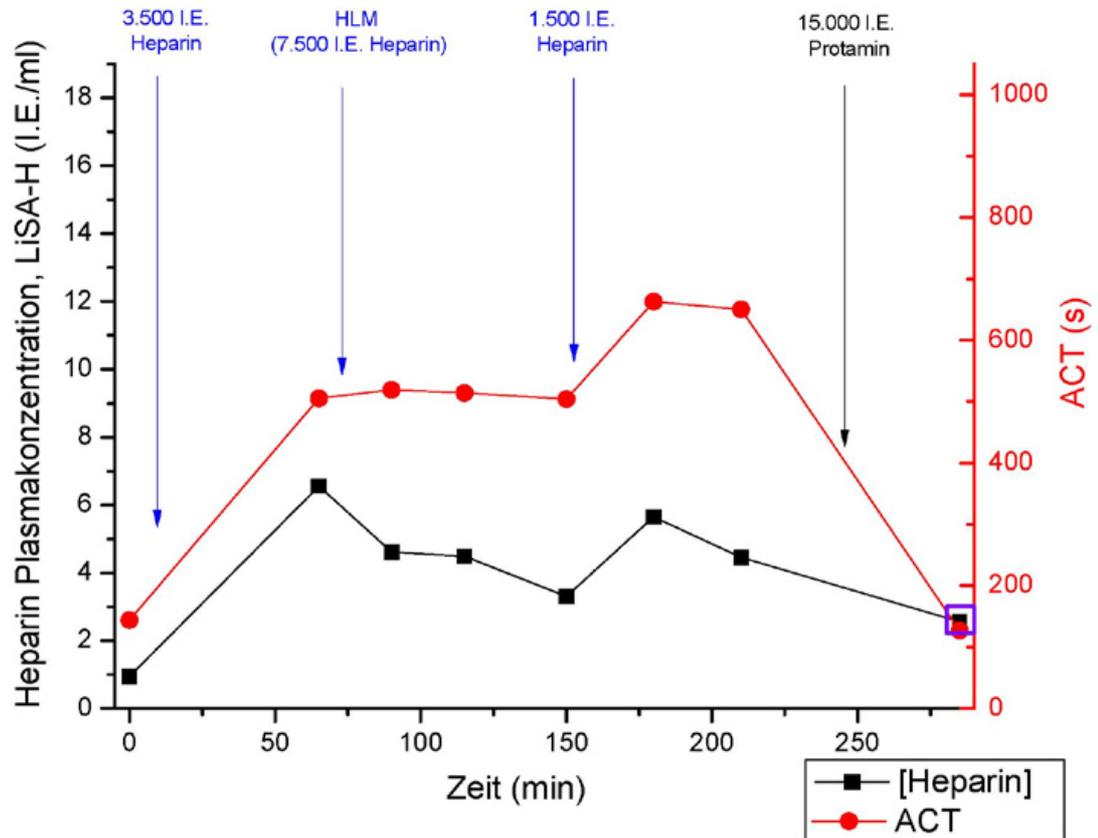


Abb. 3.8: Patient Nr. 19

3.5 ASYNCHRONER (DISJUNKTER) KURVENVERLAUF ZWISCHEN ACT UND HEPARIN

3.5.1 ASYNCHRONER KURVENVERLAUF MIT „FEHLERHAFTEN“ ACT-ZEITEN (ACT > 1000 SEK.)

Asynchrone Verläufe zwischen den ACT-Zeiten, gemessen mit der üblichen Methode *Hemochron® Junior* und den parallel bestimmten Heparinkonzentrationen, mit der neuen LiSA-Methode, stellten sich bei knapp zwei Drittel der 210 durchgeführten

LiSA- und ACT-Messungen ein. Die folgenden Abbildungen zeigen die asynchronen Verläufe zwischen ACT und Heparinspiegel. Diese Daten zeigen besonders die extrem „fehlerhaften“ ACT-Zeiten, die außerhalb des Messbereiches lagen (ACT > 1000 Sekunden). In diesen Zeiten konnte keine Aussage über die tatsächliche Gerinnung der Patienten getroffen werden. In manchen Fällen (siehe unten) war die ACT während fast des gesamten HLM-Bypasses „out of range“ mit Zeiten von > 1000 Sekunden. Bei solchen entgleisten ACT-Werten verzichtete man auf Nachdosierung von Heparin, da man bei den vorliegenden Werten von einer ausreichenden Gerinnung ausging. Die Patienten Nr. 5, 6 und 25 sind gute Beispiele für solche fehlerhaften ACT-Zeiten während des gesamten HLM-Bypasses.

Patient 3 (2,3 kg, 47 cm)

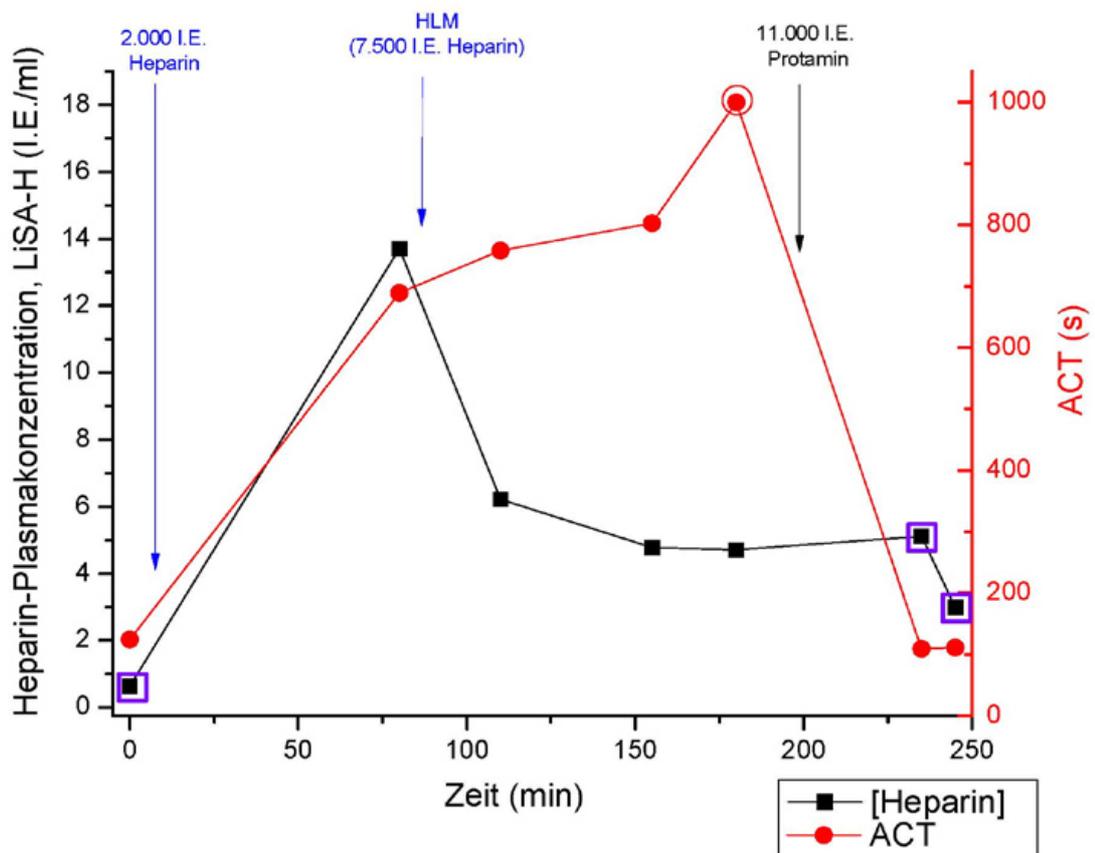


Abb. 3.9: Patient Nr. 3, asynchroner Verlauf.

Kind **Nr. 3** zeigt das Beispiel für asynchronen Verlauf beider Kurven. Bei ihm bestanden ein VSD und eine Aortenbogenhypoplasie als Grunderkrankung. Als OP

wurden ein VSD-Verschluss und eine Aortenbogenrekonstruktion durchgeführt. Die HLM-Bypasszeit betrug 116 Minuten. Man erkennt, dass nach der vollen Heparinisierung die ACT stets ansteigt. Dies wird in 4 aufeinander folgende ACT-Messungen in einem Zeitraum von ca. 3 Stunden ohne Nachdosierung von Heparin beobachtet. Zeitgleich zeigen die parallel gemessenen Heparinspiegel einem, der Clearance nach, plausiblen Abfall. Die vierte ACT-Messung zeigt sogar eine „fehlerhafte“ Zeit mit mehr als 1000 Sekunden. Bei diesem Kind kam es postoperativ zum Drainagenblutverlust von etwa 160 ml (bei einem KG von 2,3 kg). es erfolgte eine Bluttransfusionen von 135 ml Blut, 160 ml FFP und 100 ml TK. Trotzdem blutete das Kind weiter, es kam zu Herztamponade mit relevantem Hb-Abfall und Kreislaufinstabilität mit zunehmendem Katecholaminbedarf. Noch am selben Abend erfolgte die Re-OP mit Rethorakotomie und Perikardentlastung. Hier wurde keine chirurgische Blutungsquelle gefunden, vielmehr diffuse Blutungen.

Patient 16 (10,8 kg, 86 cm)

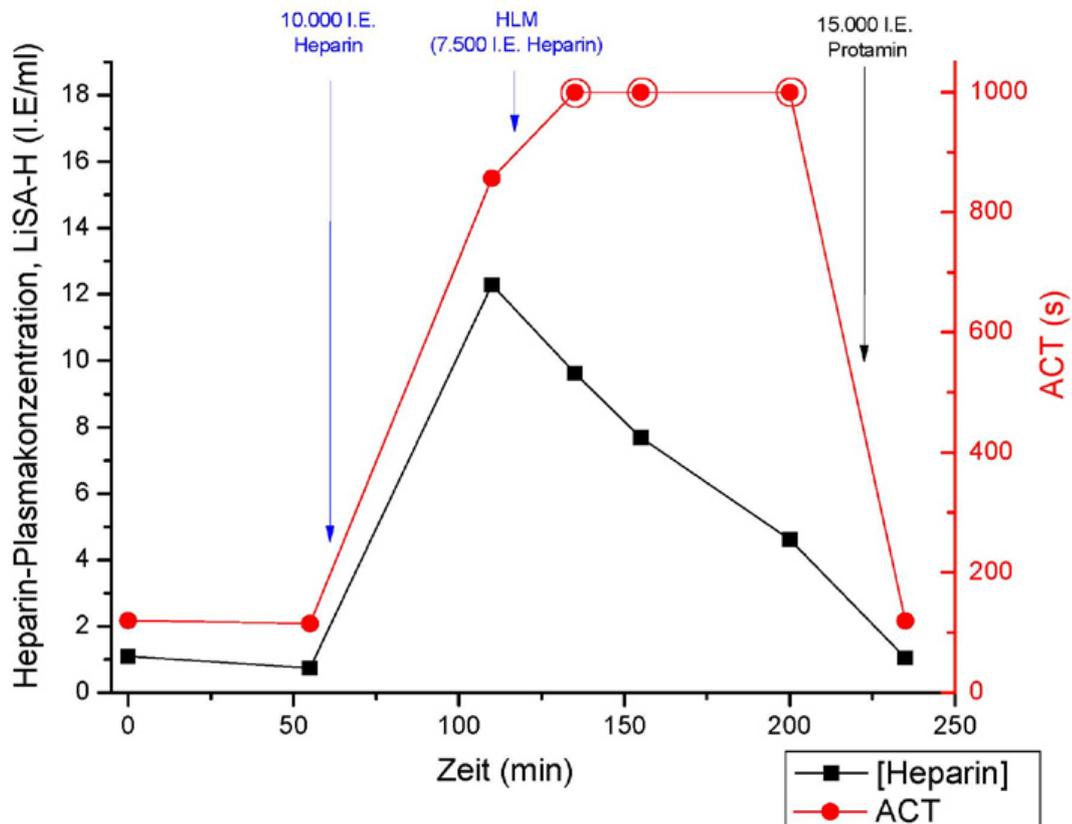


Abb. 3.10: Patient Nr. 16, asynchroner Verlauf, ACT > 1000 Sek.

Patient **Nr. 16** (10,8 kg, 86 cm) ist ein gutes Beispiel für den *asynchronen Verlauf* beider Messmethoden, wobei die *ACT zusätzlich fehlerhaft > 1000 Sek.* ist. Die ACT-Messung gerät außerhalb des Kontrollbereiches: Nach voller Heparinisierung zum Zeitpunkt 50 Minuten nach OP-Beginn steigt die ACT an. Parallel hierzu steigt der Heparinspiegel an, dann aber, ohne Nachheparinsierung, steigt die ACT weiter an bis hin zum Bereich *out of range*, mit mehr als 1000 Sekunden Zeit. Während der Heparinspiegel wie erwartet kontinuierlich nach einer gewissen Halbwertszeit abfällt. Aus der Abbildung ist zu entnehmen, dass die ACT für mehr als 1 Stunde außerhalb des Messbereiches lag und somit für diesen Zeitraum keine Informationen über den Gerinnungszustand zu erlangen waren. Hier verließ man sich drauf, dass eine ausreichende Gerinnung vorlag und weitere Kontrollen waren daher nicht notwendig.

Bei diesem Kind zeigte sich postoperativ ein Blutverlust von etwa 48 ml /kg KG mit einem Gesamt-Blutverlust von 520 ml. Es erhielt 200 ml Erythrozytenkonzentrat, 100 ml Thrombozytenkonzentrat und 500 ml Frischplasma.

Patient 5 (4,6 kg, 60 cm)

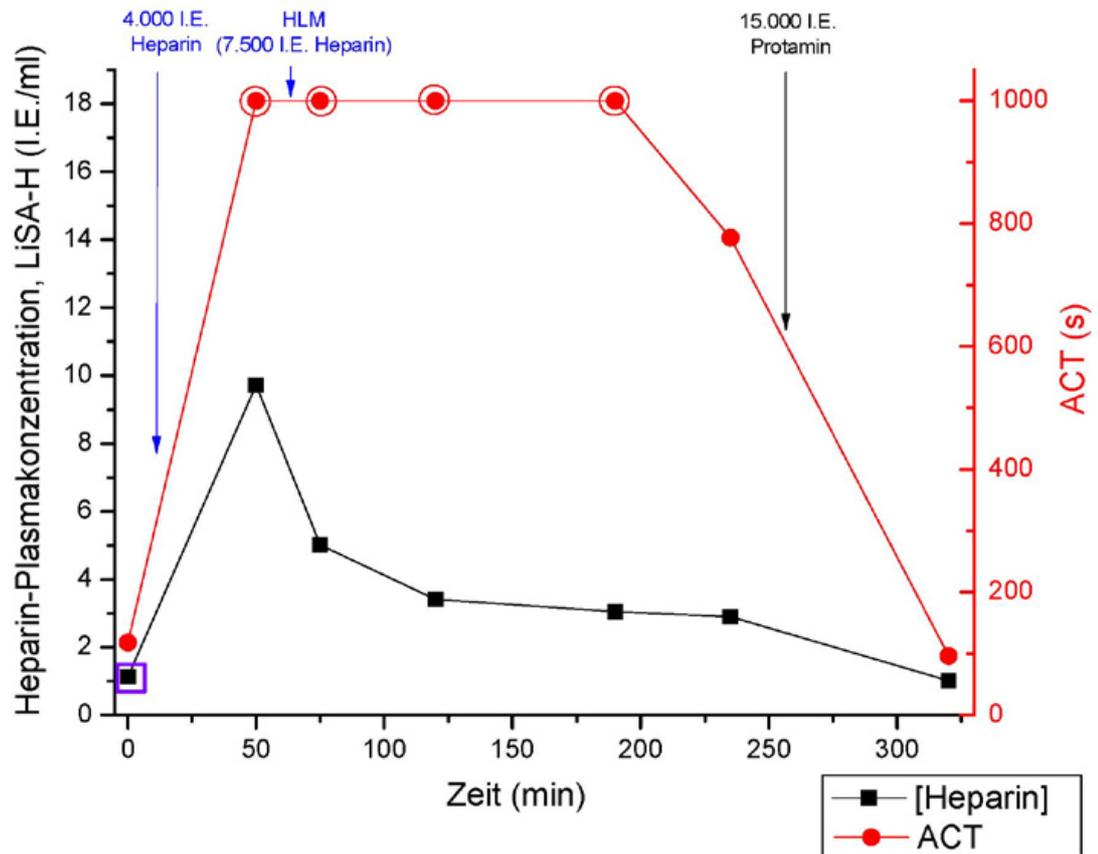
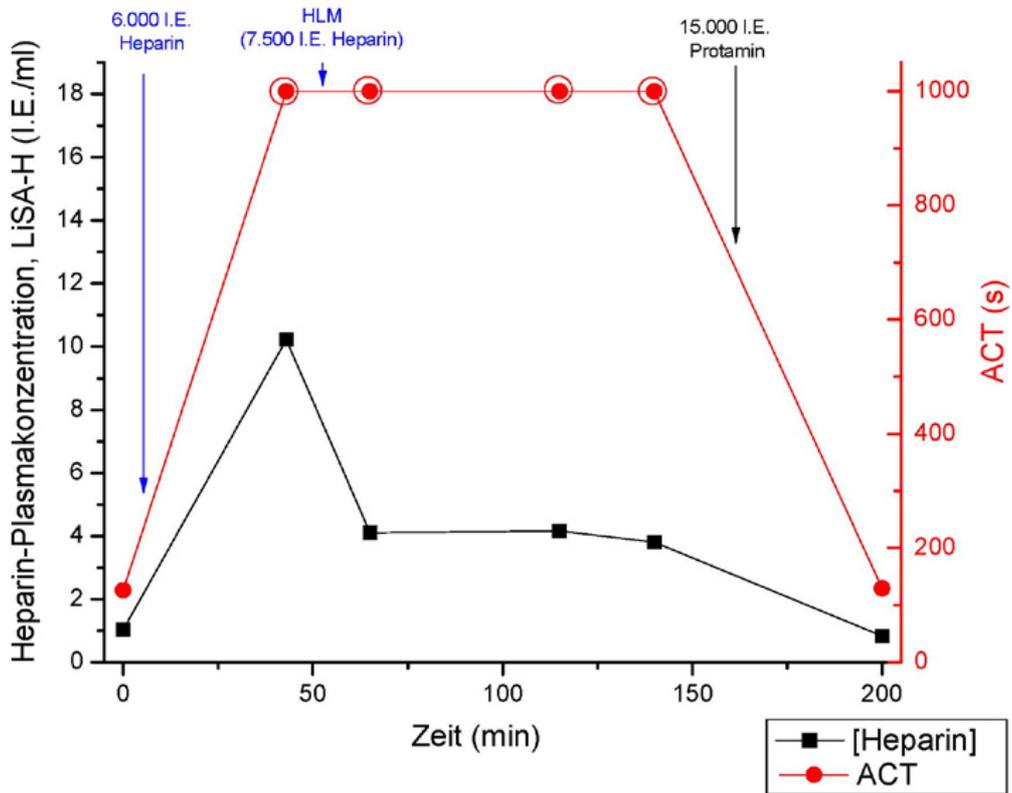


Abb. 3.11: Patient Nr. 5, asynchroner Verlauf.

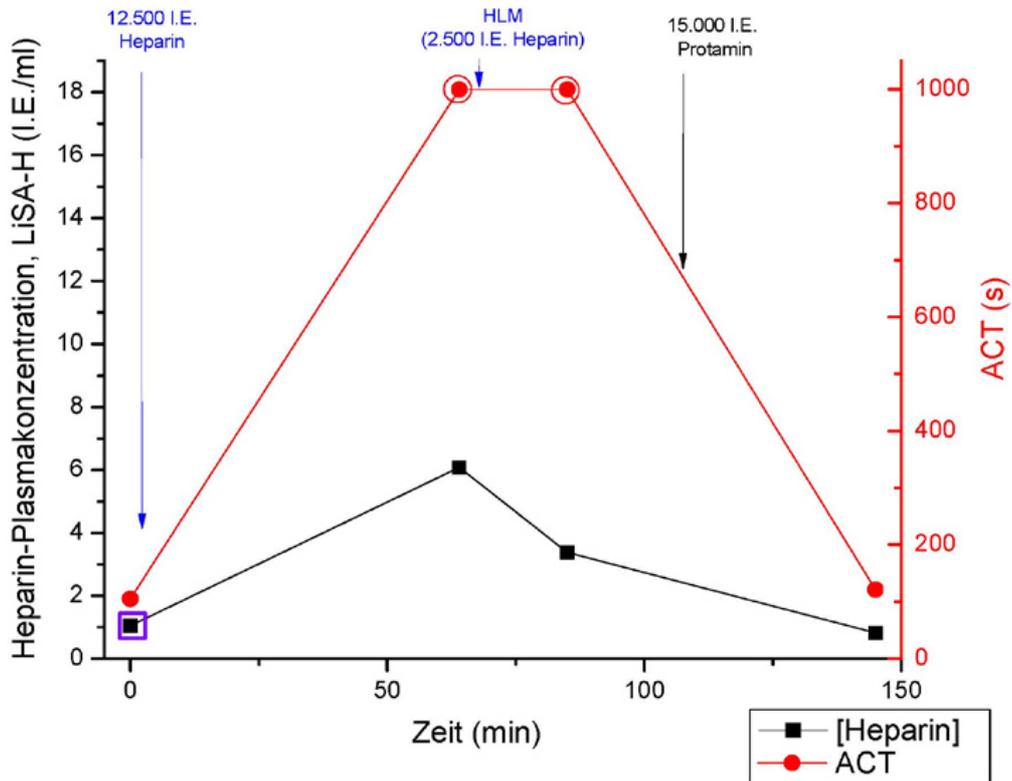
Bei diesem Patienten (Nr. 5) bleibt die ACT für mehr als 2,5 Stunden außerhalb des erfassbaren Messbereiches während der Heparinspiegel mit einer normalen Halbwertszeit von etwa 60 Min. abfällt. D.h. während der Zeit von 2,5 Stunden konnte mit der ACT-Methode alleine keine Aussage über die tatsächliche Gerinnung getroffen werden.

Die Patienten in den nächsten Abbildungen (Abb. 3.12 – 3.24) zeigen einen ähnlichen „disjunkten“ bzw. „asynchronen“ ACT-Verlauf im Vergleich zum Heparinspiegel.

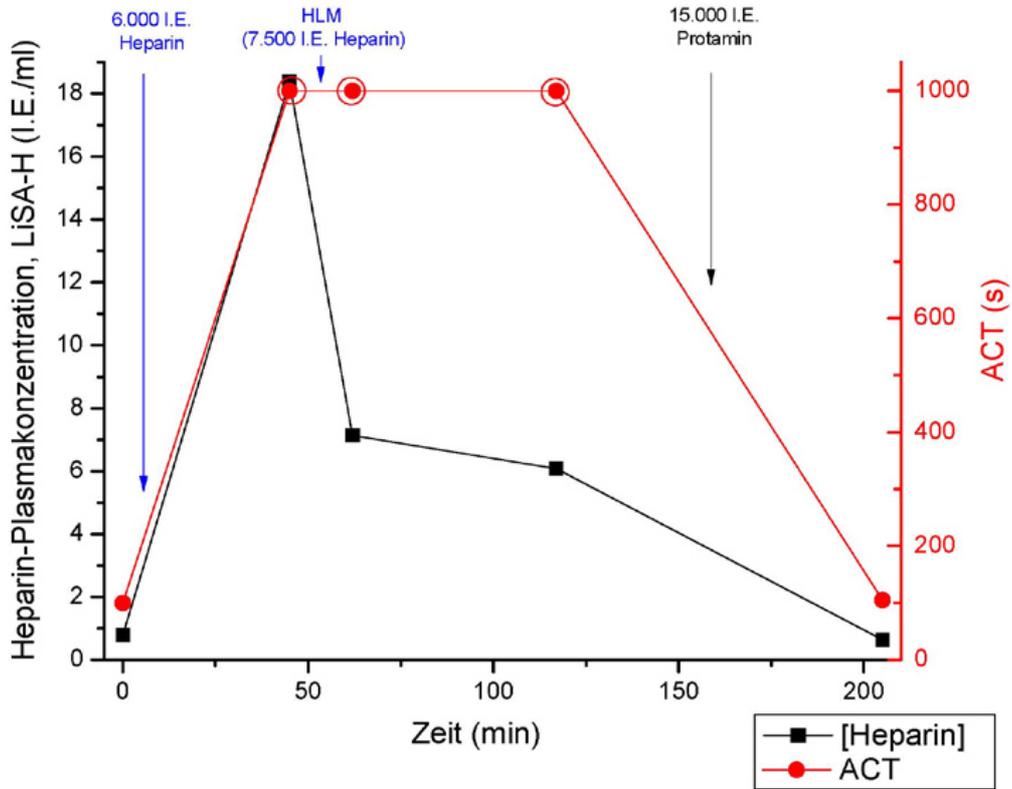
Patient 30 (7,4 kg, 69 cm)



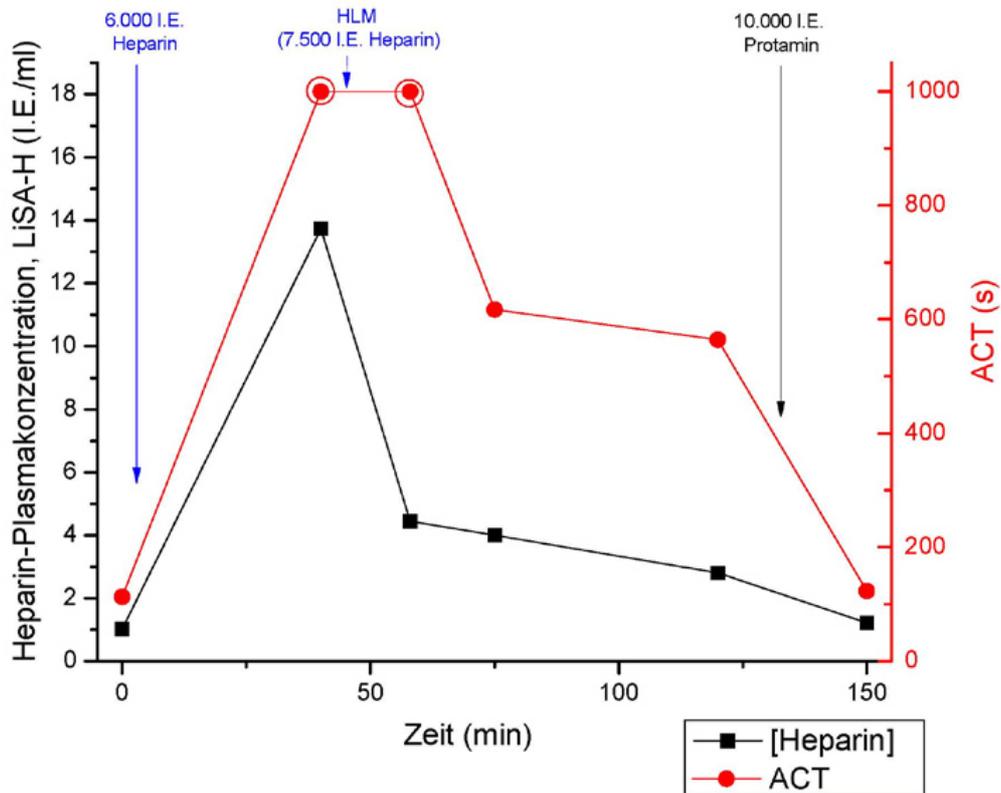
Patient 6 (24,6 kg, 126 cm)



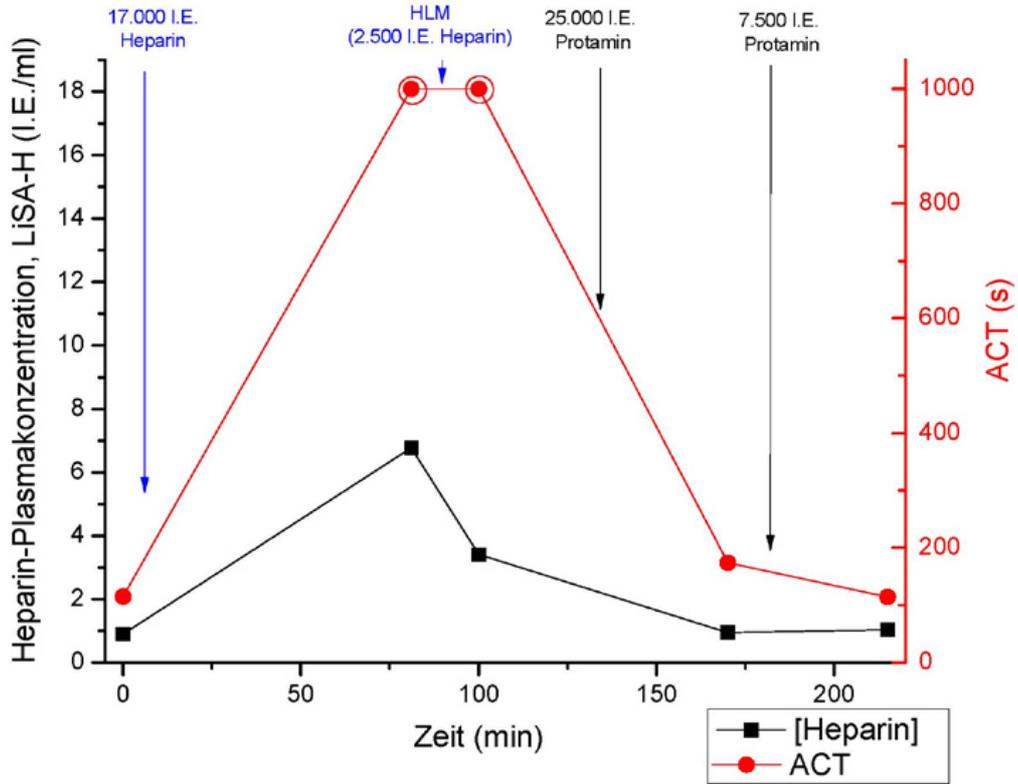
Patient 8 (7 kg, 64 cm)



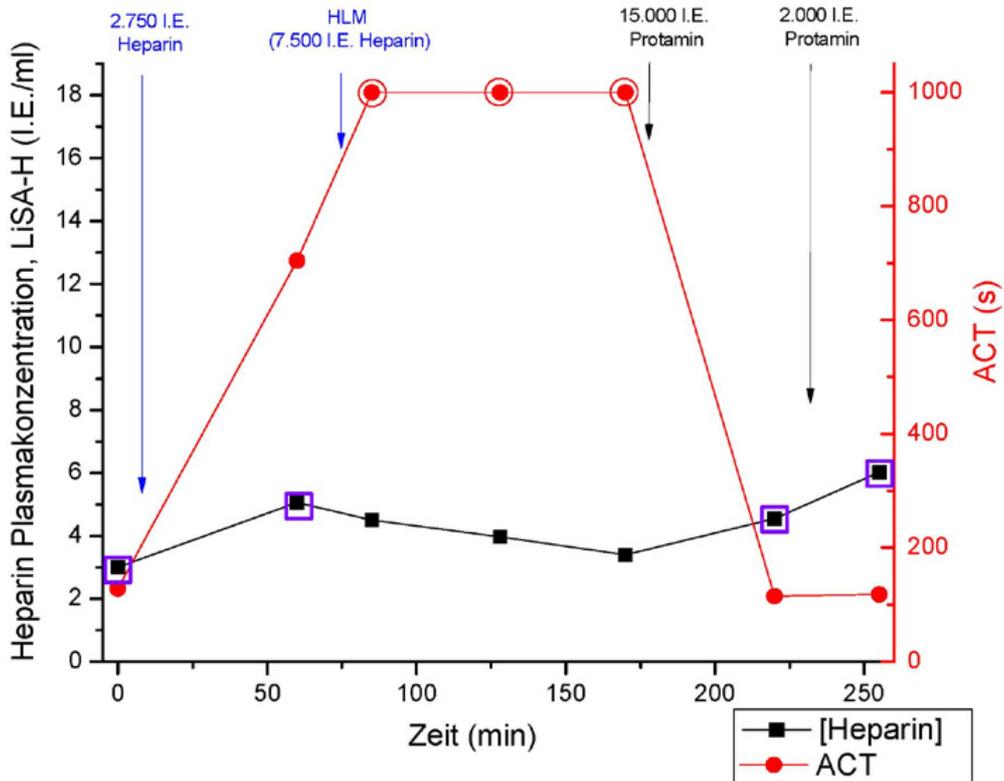
Patient 9 (6,8 kg, 64 cm)



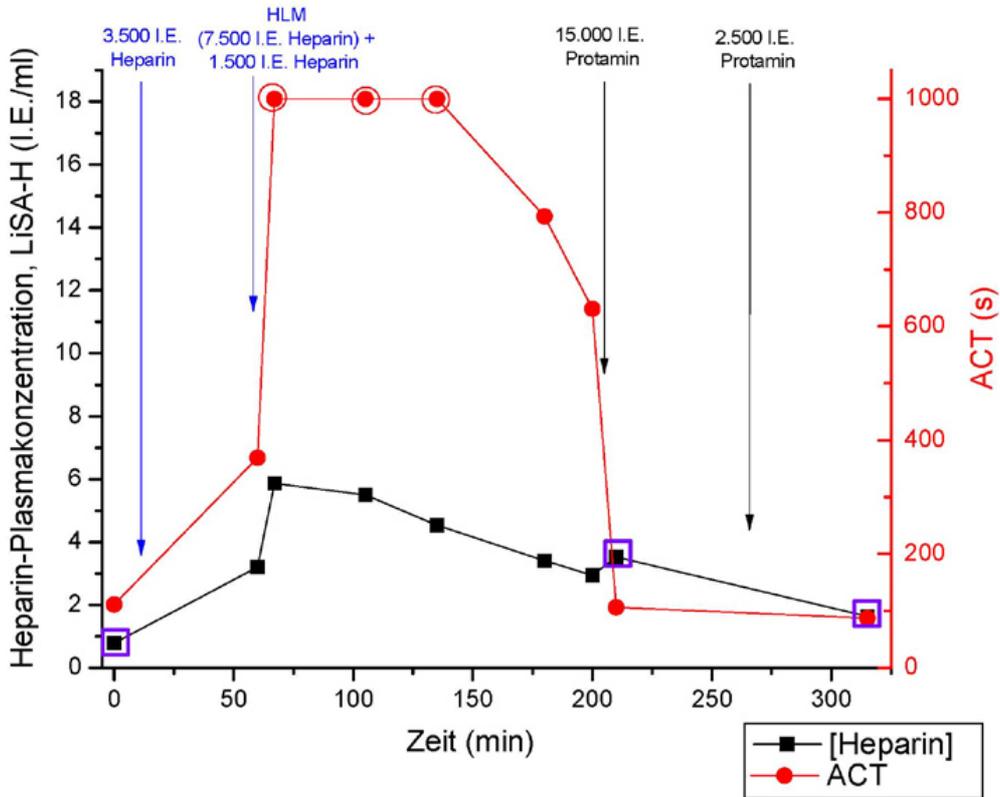
Patient 13 (33,5 kg, 144 cm)



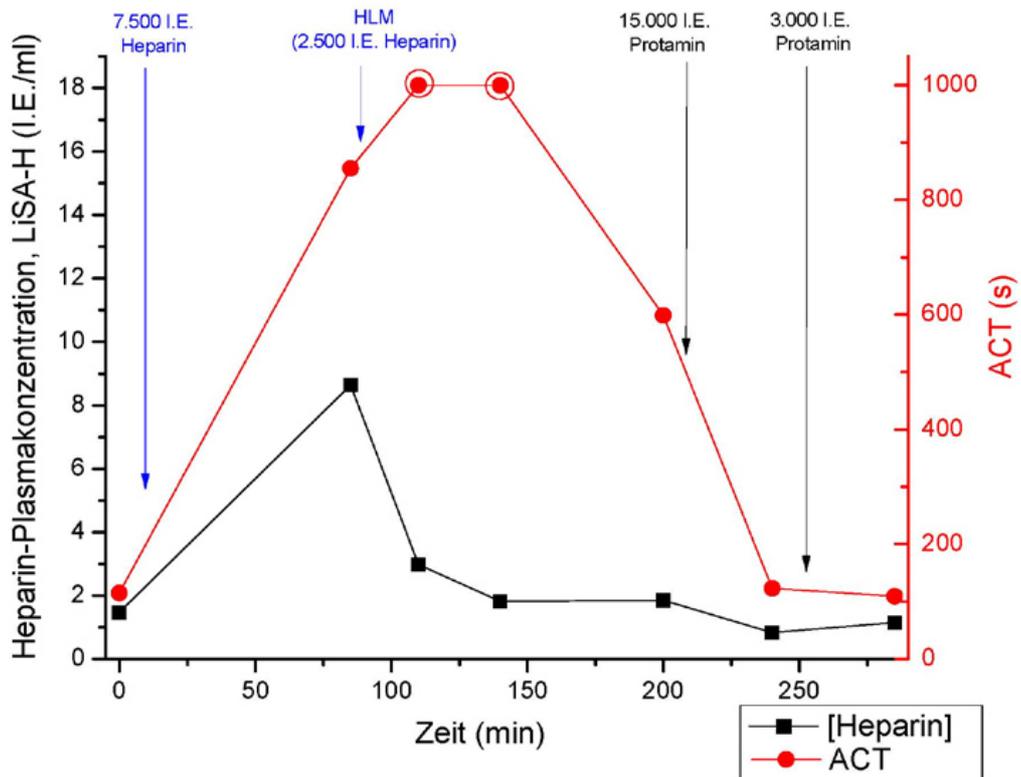
Patient 15 (3,2 kg, 50 cm)



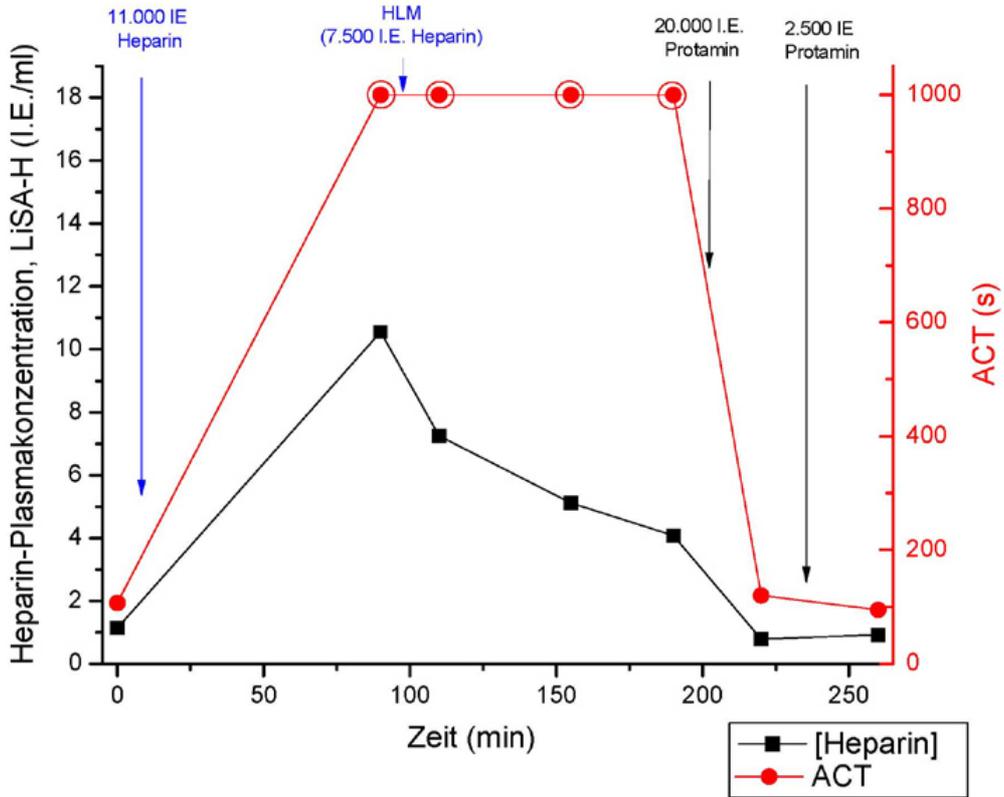
Patient 18 (3,8 kg, 52 cm)



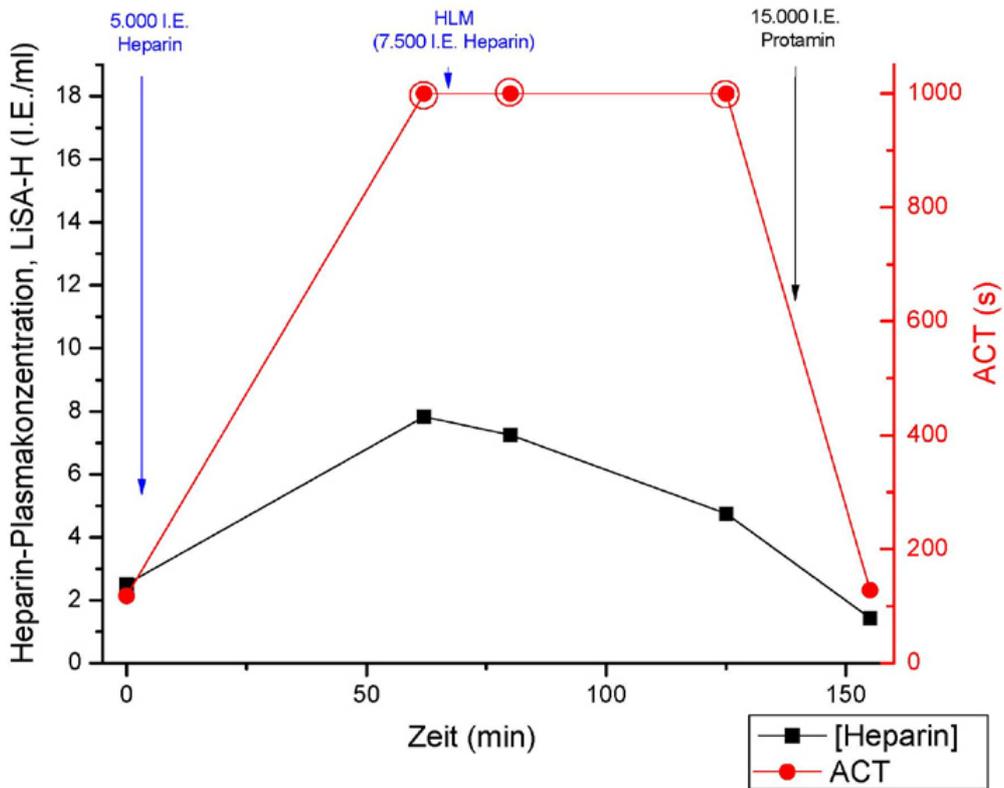
Patient 20 (11,4 kg, 91 cm)



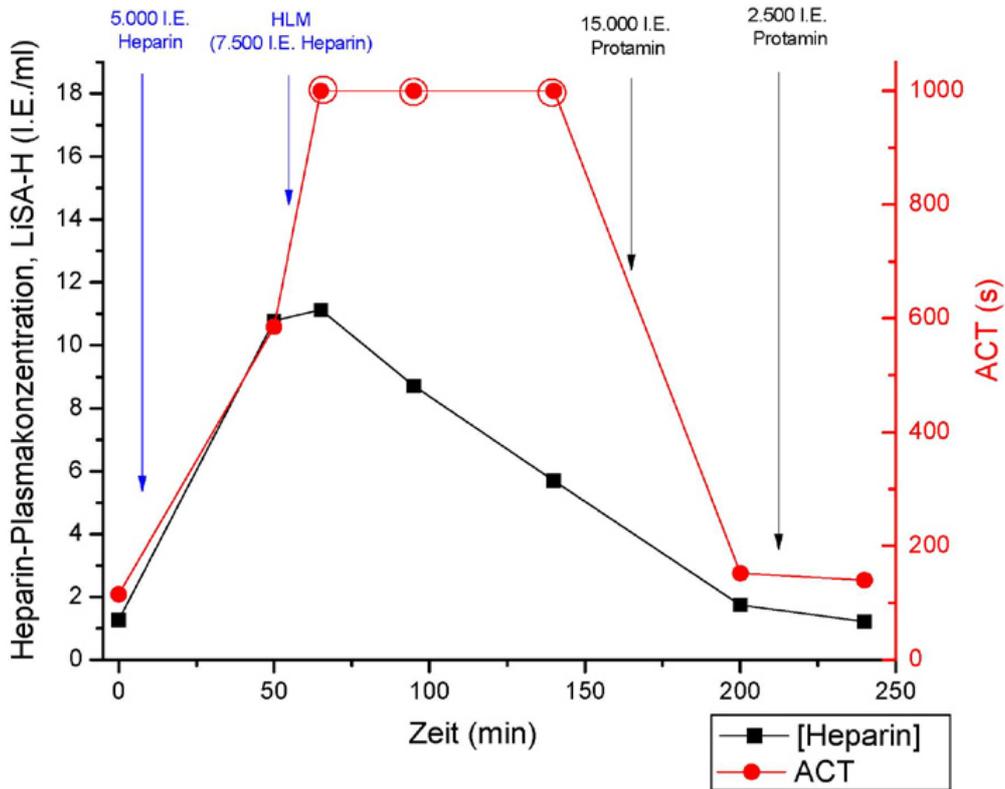
Patient 23 (14 kg, 95 cm)



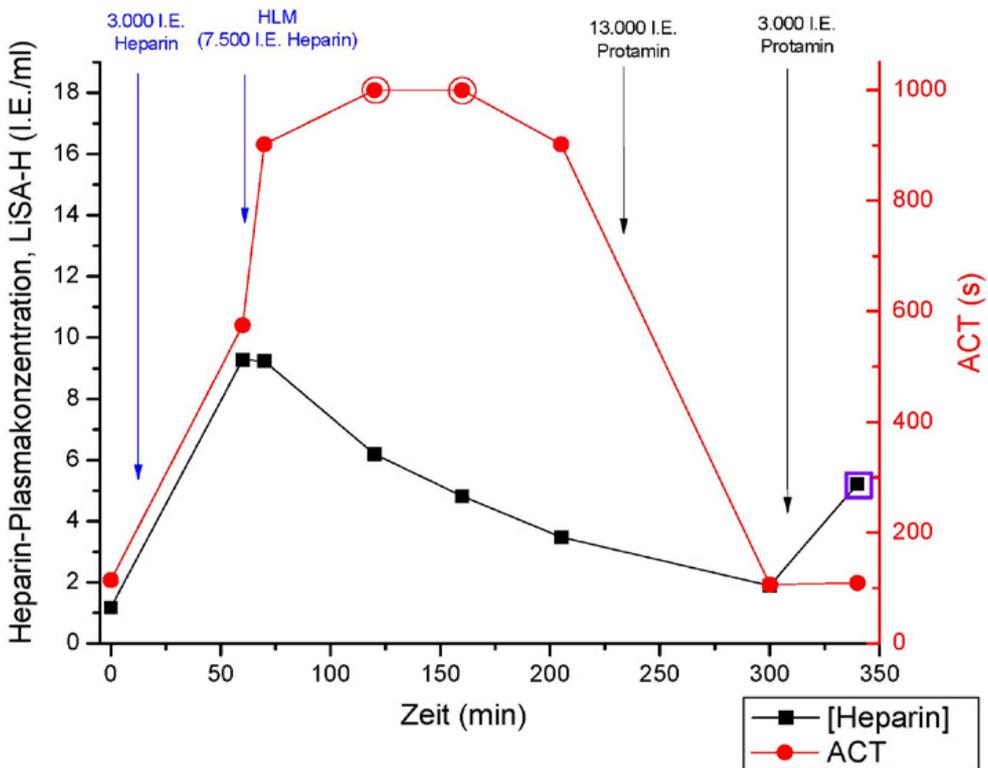
Patient 25 (5,8 kg, 66 cm)



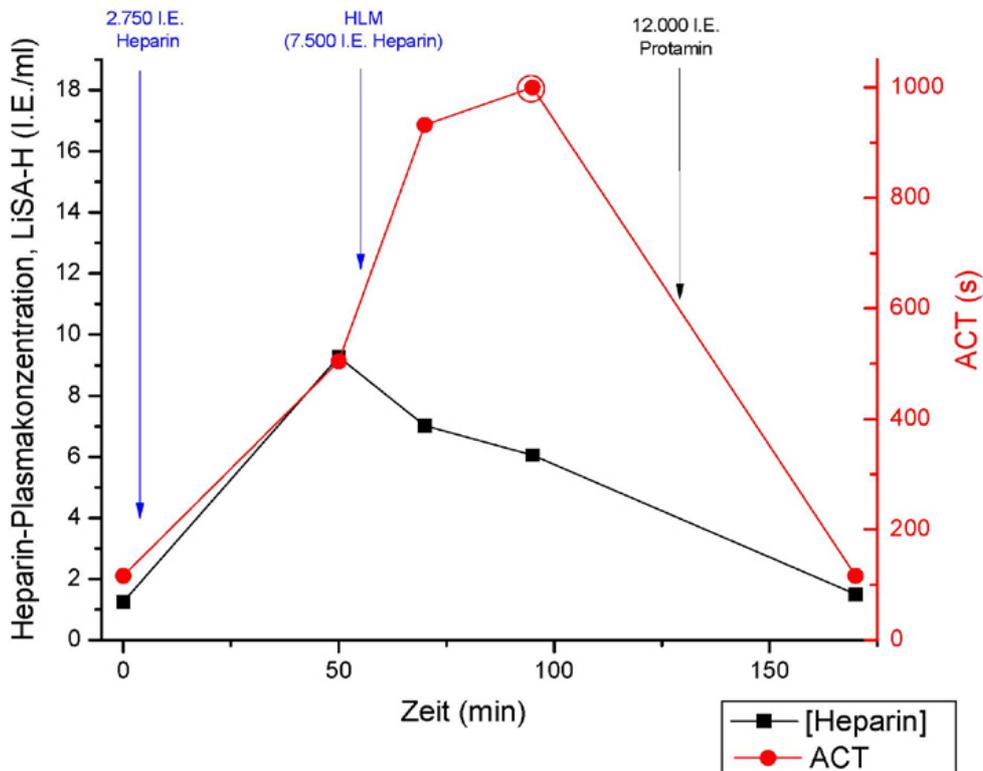
Patient 27 (6 kg, 60 cm)



Patient 28 (3,9 kg, 50 cm)



Patient 29 (3,2 kg, 48 cm)



Abbildungen 3.12 – 3.24: Patienten mit asynchronen Verläufen beider Kurven und ACT > 1000 Sek.

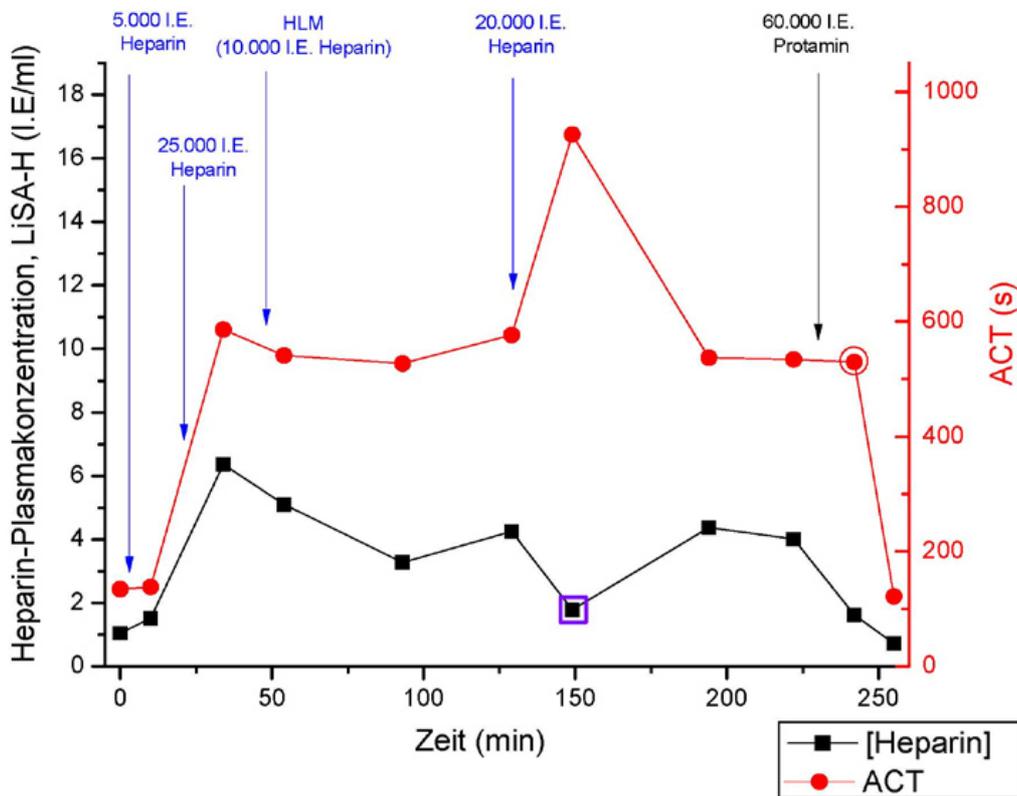
Bei Patienten Nr. 13, 15 und 29 erfolgte jeweils eine Re-OP auf Grund von starken Blutungen mit einem relevantem Hb-Abfall und einer Perikardamponade.

3.5.2 ASYNCHRONER KURVENVERLAUF MIT MESSBAREN ACT-ZEITEN (ACT < 1000 SEK.)

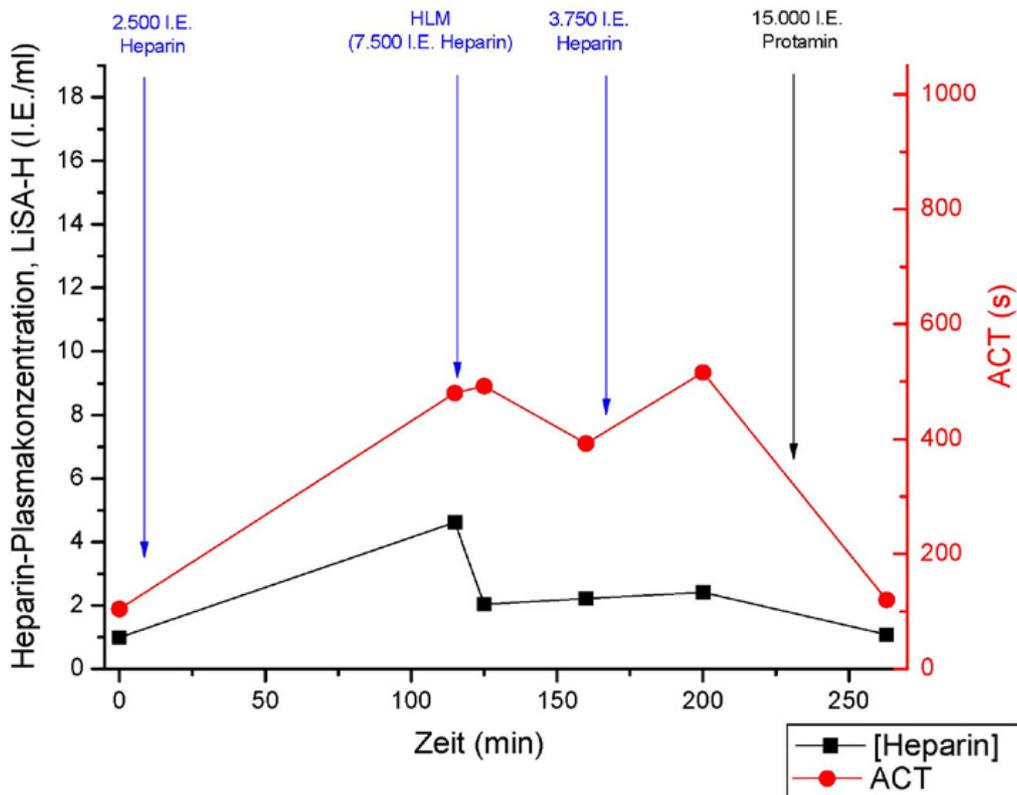
Bei insgesamt 7 Kindern zeigten die Kurvenverläufe zwischen ACT und Heparin zwar einen asynchronen Verlauf, die ACT-Zeiten waren dabei jedoch im messbaren Bereich (unter 1000 Sekunden). Bei einem Patienten (Patient Nr. 14) erfolgte am Abend des ursprünglichen OP-Tages notfallmässig die Reoperation mit Rethorakotomie bei vermehrtem Blutverlust über die Drainagen.

Folgende Abbildungen (3.25 – 3.31) zeigen alle Patientenkurven mit asynchronem Verlauf zwischen ACT und Heparinspiegel, allerdings mit messbaren ACT-Zeiten unter 1000 Sekunden.

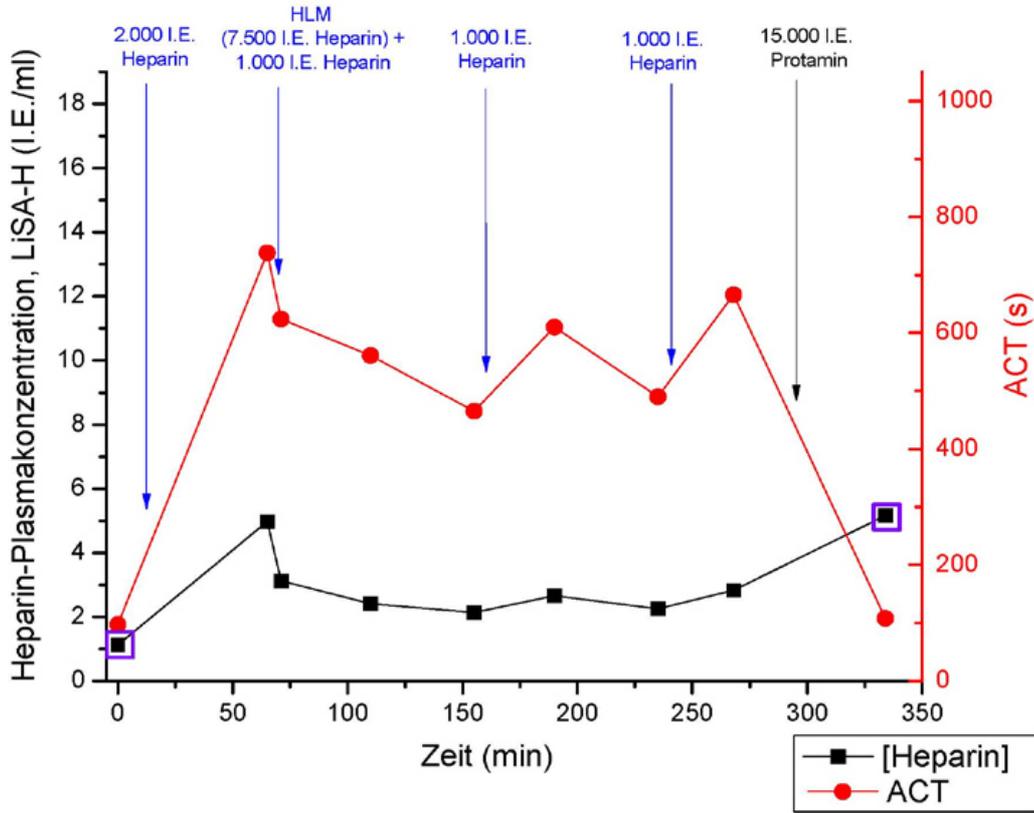
Patient 7 (58kg, 165 cm)



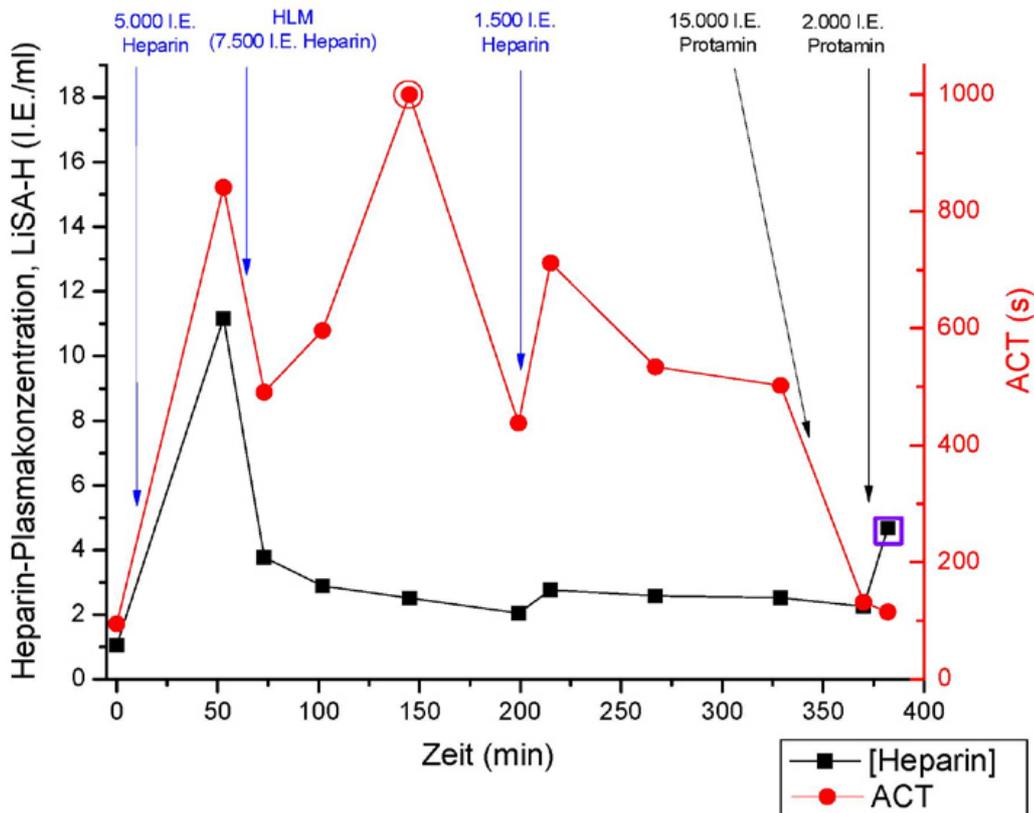
Patient 10 (17 kg, 98 cm)



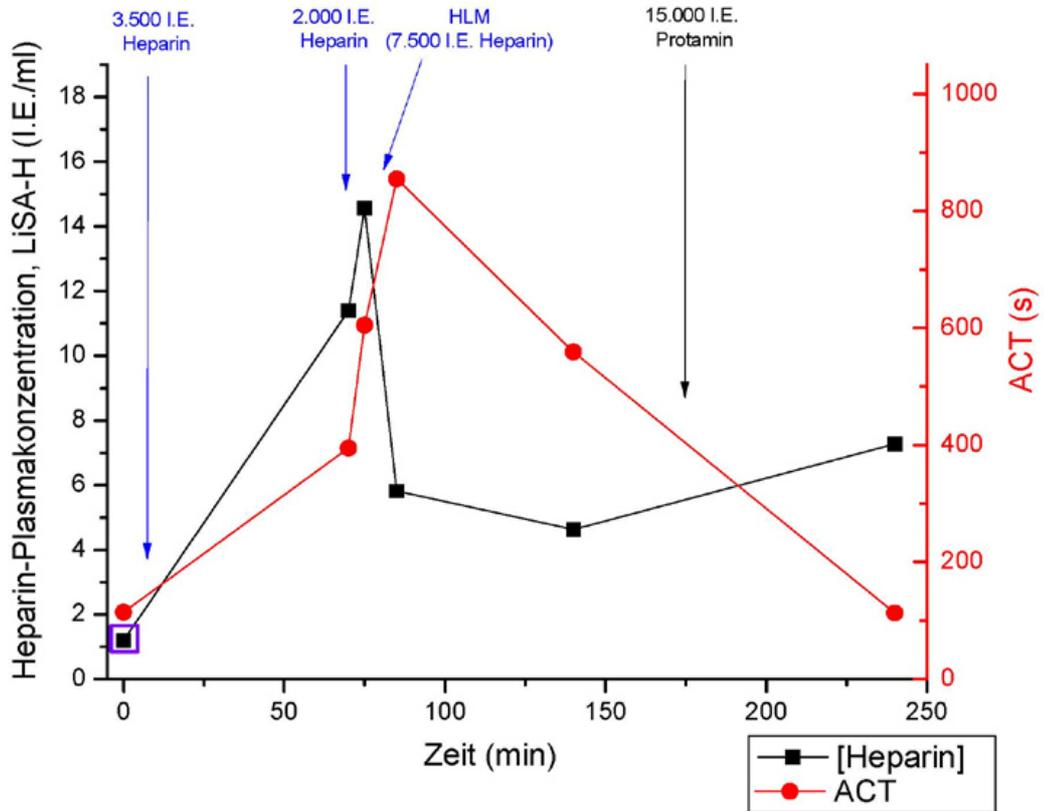
Patient 11 (3 kg, 54 cm)



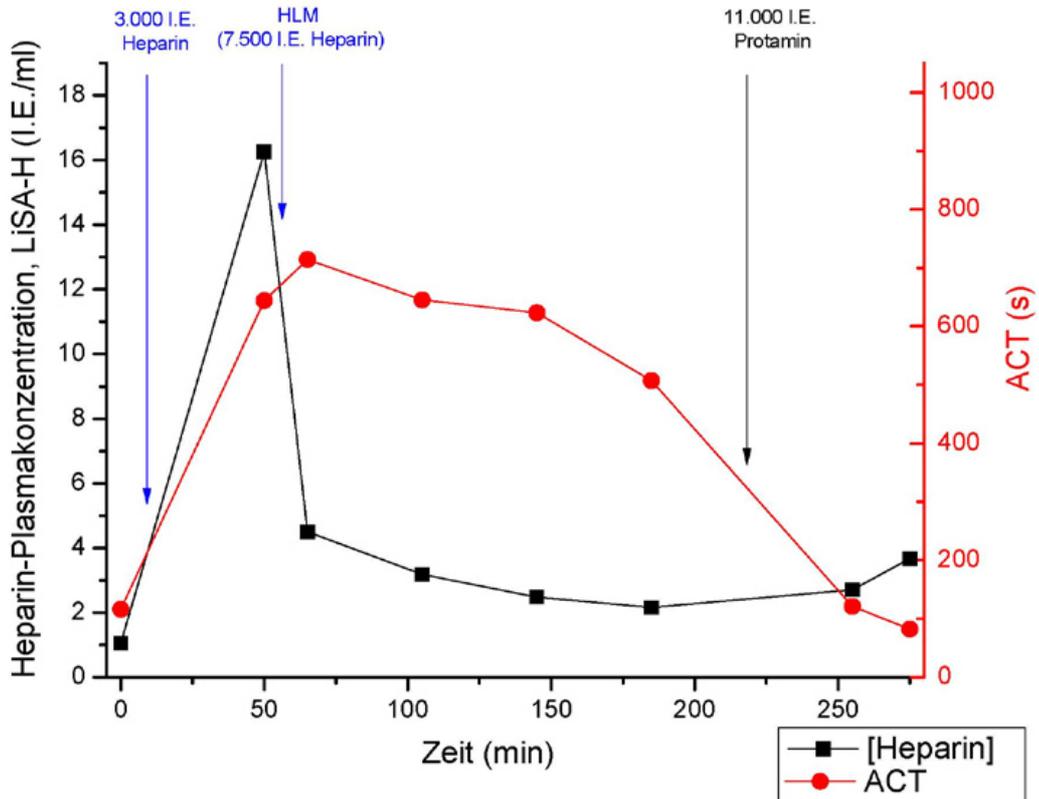
Patient 12 (5 kg, 57 cm)



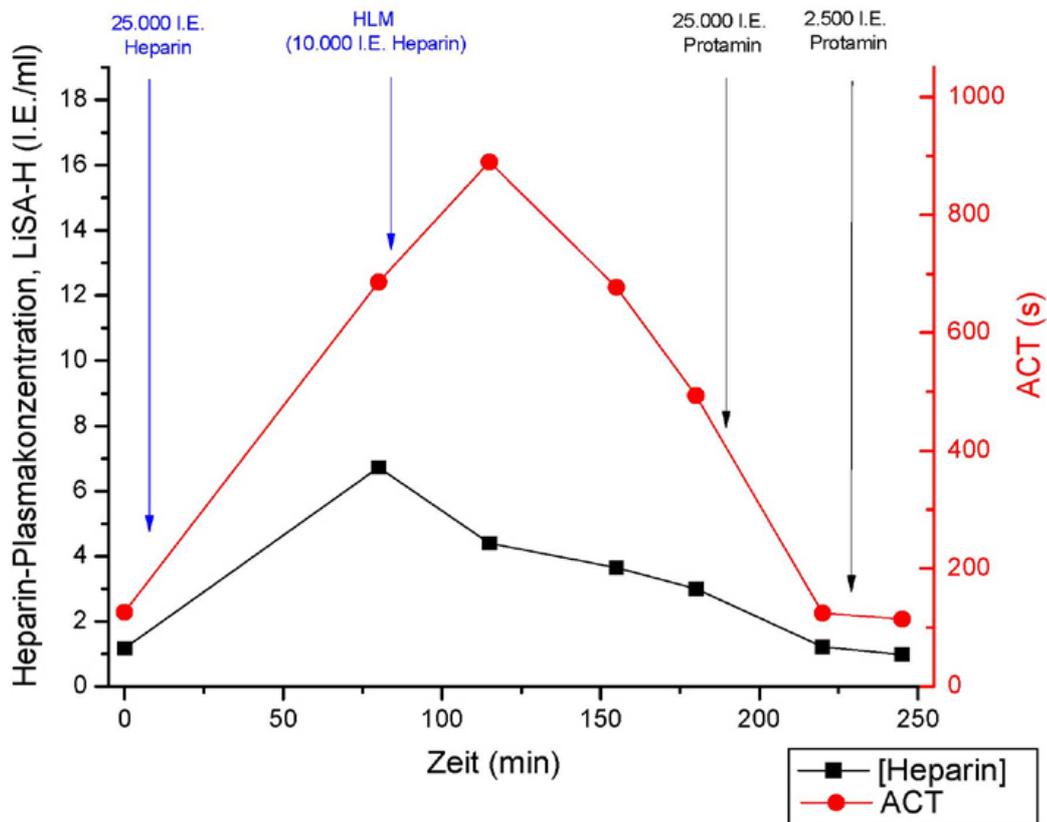
Patient 14 (3,8 kg, 52 cm)



Patient 22 (2,5 kg, 48 cm)



Patient 26 (53 kg, 155 cm)



Abbildungen 3.25 – 3.31: Patienten mit asynchronen Verläufen beider Kurven und ACT < 1000 Sek.

Die Tabelle 3.3 zeigt die Anzahl der Re-Operationen (Rethorakotomie) nach postoperativer Blutung und Tamponadefahr bei Patienten mit synchronem und asynchronem Kurvenverlauf bezogen auf die erhobenen ACT-Zeiten in jeder Gruppe. 6 von insgesamt 30 Kindern wurden in den ersten 24 Stunden postoperativ reoperiert. Auffällig war, dass die meisten reoperierten Kinder aus der Gruppe mit der Schnittstelle *asynchroner Verlauf und ACT > 1000* Sekunden stammen. In dieser Gruppe wurden 4 Kinder reoperiert.

	ACT > 1000 Sekunden	ACT < 1000 Sekunden
Gr. 1: synchrone Verläufe	0	1
Gr. 2: asynchrone Verläufe	4	1

Tab. 3.3: Anzahl der reoperierten Patienten in den entsprechenden Gruppen.

Die Abbildung 3.32 zeigt schematisch die Verteilung der synchronen und asynchronen Messungen im Verhältnis zu den unterschiedlichen ACT-Zeiten mit „fehlerhaften“ Zeiten von mehr als 1000 Sekunden und messbaren ACT-Zeiten von weniger als 1000 Sekunden:

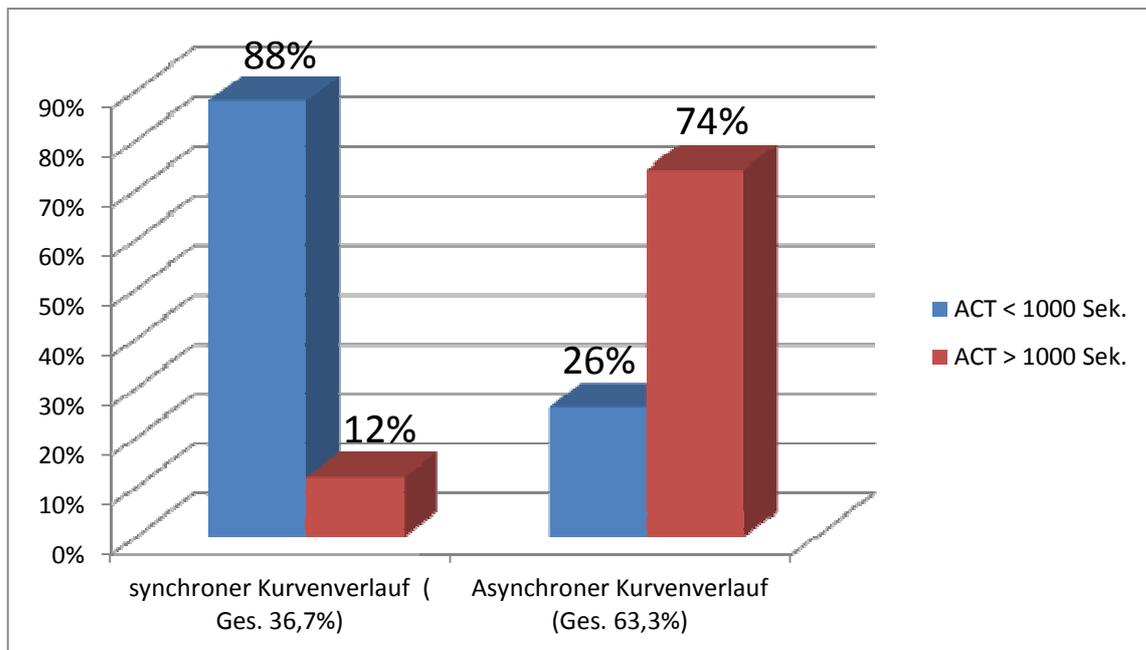


Abb. 3.32: prozentuale Verteilung der synchronen und asynchronen Messungen bezogen auf ACT-Zeiten.

3.6 KORRELATION ZWISCHEN LANGER OP-ZEIT UND BLUTUNG

Ein weiteres Ergebnis dieser Studie war die deutliche Korrelation zwischen langer OP-Zeit mit entsprechend langer HLM-Zeit und den intra- und postoperativen Blutungskomplikationen. Als Risikofaktor für Blutungskomplikationen kristallisierte sich in dieser Arbeit eine HLM-Zeit von mehr als 2 Stunden als *cut off-Zeit* heraus.

Von den 6 aufgrund von starker Blutung reoperierten Patienten, hatten 5 eine HLM-Zeit von mehr als 2 Stunden (die niedrigste HLM-Zeit war dabei 116 Minuten, die höchste 197 Minuten).

Insgesamt hatten 22 Patienten HLM-Zeiten von mehr als 2 Stunden, davon haben 8 Patienten (36%) starke postoperative Blutung mit Behandlungsnotwendigkeit gezeigt. 3 Patienten davon konnten konservativ mit Transfusionen von Blutprodukten (EK, FFP, TK) und mit Gabe von teuren Medikamenten wie Novoseven® und PPSB behandelt werden. Die anderen 5 Patienten mussten wie erwähnt, bei nicht beherrschbarer Blutung, reoperiert werden.

4 Diskussion

Die Arbeit in dieser Studie ist eine experimentelle prospektive orientierende Analyse, die das Ziel hat, ein neues Messverfahren (LiSA-H) zur direkten Heparinmessung im Blutplasma bei pädiatrischen Herzoperationen unter dem Einsatz der HLM klinisch zu validieren und die Korrelation zu der üblichen ACT-Methode aufzuzeigen.

Um eine der häufigsten Komplikationen (die intra- und postoperative Blutung) nach pädiatrischen Herzoperationen zu minimieren, soll das Antikoagulationsmanagement in der Zukunft verbessert werden. Diese Studie sollte dazu dienen.

Die erste Idee für die Entwicklung und den Bau der Apparatur des neuen Heparin-Messverfahrens, der LiSA-Methode, wurde im Institut für Biophysik an der Goethe Universität Frankfurt am Main geboren. Der Aufbau und das Messprinzip der neuen Methode sind in Kapitel 2.2 vereinfacht dargestellt. Zur genauen Funktionsweise und Entwicklung dieser neuen Testmethode beschäftigten sich die Bachelor- und Doktorarbeit von Christian Seiler [63] und Viktor Gesiarz [64], Mitarbeiter des Institutes für Biophysik an der Goethe Universität Frankfurt am Main, die die Laborversion der neuen Testmethode für den OP-Einsatz modifiziert und weiterentwickelt haben.

Diese neue Messmethode wurde am Uniklinikum Frankfurt am Main durch die Kollegin Fr. Dr. Stephanie Haselbach unter der Leitung von Prof. Mäntele bei 50 erwachsenen Patienten, die einem herzchirurgischen Eingriff mit Einsatz der HLM unterzogen wurden, evaluiert. Zur weiteren Validierung der neuen Messmethode wurde die Testphase auf die Kinder in dieser Studie erweitert, um zu zeigen, ob Unterschiede zwischen Kindern und Erwachsenen bestehen und sich diese neue Messmethode auch für die Kinderherzchirurgie eignet. Die Vorgehensweise der LiSA-Testung war am Uniklinikum Gießen und Uniklinikum Frankfurt am Main identisch.

4.1 BLUTUNGSKOMPLIKATIONEN NACH HERZCHIRURGISCHEN OPERATIONEN

Neben dem Blutverlust treten internationalen Studien zufolge, wie Charalambous et al. [86] und Bouboulis et al. [87] berichten, schwere Blutungen, die eine Reoperation zur Blutstillung erfordern, bei 3-5% der Patienten auf. Die Morbidität und Mortalität von Patienten mit Nachblutungen ist signifikant erhöht, so dass eine effektive und sichere hämostatische Therapie die Prognose entscheidend verbessern kann [55]. Zudem sind die Bluttransfusionsmengen nach komplikativen Herzoperationen hoch, was mit erhöhten Kosten und großem Aufwand zur Bereitstellung der Blutkonserven verbunden ist. Dieser Sachverhalt konnte in vorliegender Studie ebenfalls beobachtet werden, vor allem bei Patienten, die postoperativ stark geblutet haben und bei denen die Verabreichung von vielen Blutprodukten und Medikamenten (wie das teure Novoseven® und PPSB) notwendig war und/oder reoperiert werden mussten. Shander et al. berichten, dass 20% der Erythrozytenkonzentrate in Amerika nach herzchirurgischen Eingriffen transfundiert werden [56]. Laut großen multizentrischen Untersuchungen ist die postoperative Nachblutung ein unabhängiger Risikofaktor für Morbidität und Mortalität nach herzchirurgischen Eingriffen vor allem dann, wenn diese eine Reoperation zur chirurgischen Blutstillung erfordert [57, 58, 59]. Außerdem haben viele Studien gezeigt, dass die transfundierten Erythrozytenkonzentrate bei einer Reoperation aufgrund von Blutungen nach Herz-Eingriffen ein unabhängiger Faktor für Morbidität im Krankenhaus, sowie Langzeit-Mortalität waren [60, 61]. Patienten, die postoperativ wegen Blutungen nach herzchirurgischen-OP rethorakotomiert wurden, hatten in der Regel einen längeren Aufenthalt im Krankenhaus, wiesen ein höheres Morbiditätsrisiko auf und hatten höhere Behandlungskosten [74].

4.2 PRÄOPERATIVE DATEN

Die in vorliegender Studie eingeschlossen 30 Patienten mit angeborenen Herzfehlern hatten zum OP-Termin ein Alter zwischen 4 Tagen bis 22 Jahren.

Alle Operationen wurden geplant elektiv bis dringlich nach vorheriger adäquater Vorbereitung und Aufklärung durchgeführt (keine Notfälle). Die eingeschlossenen Patienten in dieser Arbeit wiesen keine Nieren- oder Lebererkrankung auf. Bei

keinem war zu OP-Termin eine bekannte Gerinnungsstörung oder Tumorleiden bekannt. Die Thrombozytenzahl sowie Gerinnungssituation vor der Operation waren in einem Normbereich (siehe Kapitel 2.4.4). Alle Patienten wurden nach demselben OP-Regime bezüglich Anästhesie- und HLM-Protokoll operiert.

Somit boten die Kinder in dieser Studie ein gutes Kollektiv zur geplanten Heparin-Untersuchung, da sie u.a. keine bekannten Einflussgrößen auf den Heparinmetabolismus, die die Ergebnisse negativ oder positiv beeinflussen würden, zeigten. Im Abschnitt 1.1.8 sind die klinischen Einflussfaktoren auf die Heparinwirkung aufgelistet.

4.3 ERGEBNISSE DER STUDIE

Wie schon erwähnt konnte in dieser Studie gezeigt werden, dass die tatsächlichen Heparinkonzentrationen im Blutplasma, gemessen mit der neuen LiSA-Methode, zu einem Drittel aller Messungen mit den ACT-Messungen korrelieren. Die Patienten mit solch synchronem Verlauf zeigten, bis auf ein Kind, nahezu einen normalen postoperativen Verlauf. In zwei Drittel der Messungen kam es zu disjunkten asynchronen Verläufen beider Messverfahren.

Folgende asynchrone Verläufe und Konstellationen waren problematisch und führten zu Blutgerinnungs-Missmanagement und Blutungen:

1. **ACT hoch, Heparinspiegel niedrig gemessen während des HLM-Bypasses:** dieses Verhalten kann man am besten bei Kind Nr. 3 (Abbildung 3.9) beobachten. Auffällig ist, dass nach der vollen Heparinisierung die ACT stets ansteigt. Dies wird in 4 aufeinander folgenden ACT-Messungen in einem Zeitraum von ca. 3 Stunden ohne Nachdosierung von Heparin beobachtet. Zeitgleich zeigen die parallel gemessenen Heparinspiegel mit der LiSA-Methode einen plausiblen Abfall. Die vierte ACT-Messung zeigt sogar eine „fehlerhafte“ Zeit mit mehr als 1000 Sekunden. Bei diesem Kind hat man während der gesamten OP kein Heparin nachgegeben, weil man sich auf die hohe ACT-Zeit verlassen hat. Hätte man nach dem Heparinspiegel gehandelt, hätte man Heparin nachgeben müssen, und dementsprechend wäre die Protamindosis zum Antagonisierung von Heparin nach Abgang von der HLM

höher gewesen (Protamin wird 1:1 zu der gesamten verabreichten Heparinmenge gegeben). Daraus resultiert, dass die starke postoperative Blutung und Gabe von vielen Blut- und Gerinnungsprodukten und letztendlich die Rethorakotomie bei diesem Kind möglicherweise auf die zu wenig gegebene Protaminmenge zurückzuführen ist.

2. **ACT normal, Heparinspiegel hoch gemessen zum Zeitpunkt nach Protamingabe:** dieser Kurvenverlauf zeigt sich deutlich bei Kind Nr. 15 (Abbildung 3.17), bei dem die ACT für 3 Messungen in einem Zeitraum von mehr als 2 Stunden hintereinander „fehlerhaft“ bei > 1000 Sekunden lag. Es konnte in dieser Zeit keine Aussage über die tatsächliche Gerinnung getroffen werden. Nach Antagonisierung mit Protamin zeigte sich eine normale ACT-Zeit, die Heparinmessung mit LiSA zeigte jedoch überraschend einen Anstieg der Heparinkonzentrationen, was darauf hindeutet, dass noch Restheparin vorhanden, welches eigentlich mit Protamin hätte antagonisiert werden müssen. Hier verließ man sich aber darauf, dass die Gerinnung nach der Protamingabe „gut genug“ ist, da die ACT im Normalbereich lag, und deshalb wurden keine weiteren Kontrollen durchgeführt. Auch dieses Kind musste wegen der starken postoperativen Blutung rethorakotomiert werden. Aufgrund der starken postoperativen Blutung mit nachfolgender Rethorakotomie kann mit hoher Wahrscheinlichkeit von einer korrekten Messung des Heparinspiegels mit dem LiSA-Verfahren zum Zeitpunkt der Protamingabe ausgegangen werden.

3. **ACT hoch während Heparinspiegel normal zum Zeitpunkt nach Protamingabe:** solche asynchronen Verläufe konnten mehrfach in dieser Studie beobachten werden. Ein Beispiel dafür ist Kind Nr. 27 (Abbildung 3.23). Hier sieht man, dass nach Heparinantagonisierung mit 15000 IE Protamin die ACT bei 152 Sekunden lag. Gleichzeitig konnte ein Heparinspiegel von etwa 1,4 Heparin IE/ml gemessen werden, was in etwa der Ausgangskonzentration und dem Normalbereich entspricht. Da der ACT-Wert aus Sicht der Anästhesisten jedoch zu hoch war, entschied man sich für die Gabe weiterer 2500 IE Protamin beim 6 kg schweren Kind worauf hin die ACT-Zeit auf einem weiterhin hohen Niveau von 140 Sekunden ermittelt wurde.

Intraoperativ erfolgte die Gabe von 0,5 g Fibrinogen. Dieses Kind hatte einen Drainagen-Blutverlust innerhalb der ersten 24 Stunden von etwa 220 ml und musste aufgrund der Blutung mit einem Frischplasma-volumen von 285 ml und einem Thrombozytenvolumen von 125 ml transfundiert werden. Aus unserer Sicht hat dieses Kind zu viel Protamin erhalten, da nach unserer Messung mit der LiSA-Methode keine höheren Heparinmengen im Blut nach der Protamingabe vorhanden waren. Die Gabe von viel Protamin könnte bei diesem Kind für den großen Drainagenverlust verantwortlich sein, denn auch zu hohe Protamindosen können selbst antikoagulatorisch durch Hemmung der Gerinnungsfaktoren und Inaktivierung der Thrombozyten wirken, wie Shigeta et al. in ihrer Arbeit zeigen konnten [47].

2/3 aller Messungen in dieser Studie zeigten einen asynchronen Verlauf zwischen Heparin- und ACT-Kurve. Teilt man die asynchronen Verläufe in 2 Subgruppen: eine mit messbaren ACT-Zeiten (ACT < 1000 Sek.) und eine mit „fehlerhaften“ ACT-Zeiten (ACT > 1000 Sek.), so erkennt man sofort, dass sich die meisten asynchronen Kurvenverläufe in der Subgruppe mit „fehlerhaften“ ACT-Zeiten befanden, in dieser Subgruppe zeigten sich auch 4 von Insgesamt 6 Rethorakotomien aufgrund von starker Blutung postoperativ. (Siehe dazu Abbildung 3.32 und Tabelle 3.2). Diese Verteilung zeigt deutlich wie unzuverlässig die ACT-Messmethode sein kann, wenn die ACT-Zeit außerhalb des erfassbaren Messbereiches liegt.

4.4 PÄDIATRISCHE ERGEBNISSE DER LISA-METHODE IM VERGLEICH ZU DEN ERWACHSENEN

In der Studie bei erwachsenen herzchirurgischen Patienten am Uniklinikum Frankfurt am Main lagen die synchronen Verläufe zwischen Heparin und ACT bei etwa 2 Drittel höher verglichen mit den synchronen Verläufen in dieser Studie (1 Drittel) [71]. Dieses bessere Abschneiden von synchronen Verläufen bei den Erwachsenen im Vergleich zu den Kindern wurde auf die geringere Hämodilution der Erwachsenen zurückgeführt. Als Hämodilution beschreibt man die therapeutische Verminderung des Erythrozytenvolumens (Hämatokrit) im Verhältnis zum Plasmavolumen bedingt

durch Blutersatzmittel wie kristalloide und kolloidale Lösungen, Medikamente und Kardioplegielösungen.

Durch die Gabe von Volumenersatzmittel im Zusammenhang mit der HLM werden die plasmatischen Gerinnungsfaktoren verdünnt [88]. Das betrifft kristalloide sowie kolloidale Lösungen, wobei der Effekt der Gerinnungsverschlechterung unter kolloidalen Lösungen deutlicher ist, wie Asskali et al. in ihrer Arbeit über den Effekt der HES-Lösungen auf die Hämodilution in vitro und in Vivo zeigen konnten [72].

Kinder im reifen neugeborenen Alter haben ein durchschnittliches Blutvolumen von etwa 85 ml/kg KG und einen Durchschnitts-Hämatokrit von etwa 60% [73]. Somit hätte ein Kind mit einem Körpergewicht von 5 kg ein Blutvolumen von etwa 425 ml. Eine kleine Volumenersatzgabe von z.B. 100 ml Ringer würde bei diesem Kind eine starke Hämodilution verursachen.

Kinder mit einem Körpergewicht < 10 kg hatten in dieser Studie eine Bilanz von etwa 66 ± 29 ml/kg KG. Diese Bilanzen waren deutlich größer (bezogen auf das Körpergewicht) als bei Erwachsenen, demzufolge war die Hämodilution bei den untersuchten Kindern deutlich höher als bei Erwachsenen. Die hohe Hämodilution stellt einen der wichtigsten Störfaktoren auf die ACT-Messung dar, sie würde die ACT falsch verlängern, daher waren in unserer Studie viele *fehlerhafte* ACT-Zeiten gemessen worden und im Vergleich zu den Erwachsenen deutlich mehr asynchrone Verläufe zwischen der ACT- und LiSA-Methode zu dokumentieren.

Daraus ist zu schließen, dass in der Kinderherzchirurgie die ACT-Methode noch unzuverlässiger ist als sie ohnehin schon ist, wie bei Erwachsenen, aufgrund der (meistens) unvermeidbaren hohen Hämodilution vor allem bei Kindern mit Körpergewicht < 10 kg.

4.5 HEPARIN-HALBWERTZEIT

Die Halbwertzeit bei den untersuchten Kindern in dieser Studie lag im Durchschnitt bei etwa 130 Minuten (65 – 194 min.), bei den Erwachsenen lag sie bei etwa 300 Minuten (78 – 524 min.). Viele Studien belegten, dass die Heparin Clearance

verschiedenen Faktoren unterliegt (Hypothermie, Thrombozytenzahl und Funktion sowie Hämodilution [75]) und individuell zu betrachten ist. Hirsh et al. [76] zeigten in ihrer Arbeit, dass die Heparin Clearance eine Kombination aus einem schnellen Sättigungsmechanismus und einem viel langsameren Ausscheidungsmechanismus unterliegt. Die schnelle Sättigungsphase entsteht durch Bindung an Endothelzellen und Makrophagen, die langsamere Phase wird durch die renale Ausscheidung gekennzeichnet. Die tatsächliche Clearance von Heparin entsteht in der schnellen Sättigungsphase [77-79]. Bull et al. konnten 1975 zeigen, dass von Patient zu Patient große interindividuelle Unterschiede bezüglich Höhe und Dauer von Heparinwirkung bestehen und dass keins der von ihnen untersuchten Dosierungsschemata für den Patienten eine sichere Antikoagulation bedeutet. Die Autoren empfahlen daher die routinemäßige ACT-Messung als Kontrollparameter für den Gerinnungsstatus [91].

In der vorliegenden Studie konnte kein Zusammenhang zwischen den präoperativen Kreatinin-Werten und der Halbwertszeit von Heparin aufgezeigt werden. Dies wurde auch bei den Erwachsenen gezeigt. Die Halbwertszeiten bei Kindern waren im Schnitt etwa halb so hoch wie bei den Erwachsenen. Dies ist wahrscheinlich auf die bessere Verstoffwechslung von Heparin bei Kindern im Vergleich zu Erwachsenen zurückzuführen.

4.6 ZUSAMMENHANG ZWISCHEN LANGER OP-ZEIT UND BLUTUNG

In der vorliegenden Studie wurde herausgefunden, dass die langen OP-Zeiten bei pädiatrischen Herzeingriffen mit entsprechend langen HLM-Bypasszeiten ein Risikofaktor für vermehrte intra- und postoperative Blutungen darstellt. 36% der Patienten mit HLM-Zeiten von mehr als 2 Stunden als *cut off Zeit* zeigten postoperativ relevante Blutung. Dies ist durch die vielen Nachgaben von Heparin bei langen OP-Zeiten zur Aufrechterhaltung therapeutischer ACT-Werte für die HLM zu erklären. Außerdem steigt mit der OP-Länge auch kontinuierlich der Bedarf an Fremdblut, anderen Blutprodukten, kristalloiden und kardioplegischen Lösungen, welche die Hämodilution im negativen Sinne beeinträchtigen und zur Verdünnung der Gerinnungsfaktoren führt.

Diese Ergebnisse sind vergleichbar mit den Ergebnissen von Chalmers et al., die den mediastinalen Blutverlust sowie die Rethorakotomien, Morbidität und Mortalität bei Patienten mit isolierten Aortenklappenersatz im Zusammenhang mit HLM-Zeiten ermittelt haben. Sie konnten den direkten Zusammenhang zwischen langen HLM-Zeiten von mehr als 90 Minuten und dem erhöhten Risiko an postoperativer mediastinaler Blutung, einhergehend und der höheren Mortalität und Morbidität als langfristige Outcomes aufzeigen [90].

4.7 GENAUIGKEIT UND HANDHABUNG DER NEUEN MEßMETHODE

Die Arbeitsgruppe von Prof. Mäntele im Institut für Biophysik an der Goethe Universität Frankfurt am Main untersuchte in vitro genau das neue Messverfahren „LiSA“ und konnte schon bei wenigen Heparinkonzentrationen nach Antagonisierung mit Protamin und Bildung von Nanopartikel durch das Lichtstreuprinzip zuverlässige Heparinkonzentrationen liefern.

Zur Validierung der LiSA-Messgenauigkeit wurden die ermittelten Heparinkonzentrationen mit der Standard-Messmethode im Labor, *Prothrombinase induced clotting time* „PiCT Methode“, verglichen [71]. Hier wurde eine starke Korrelation in den Ergebnissen beider Verfahren gezeigt (siehe Abbildung 2.3).

Zu der Zeit der Studiendurchführung zeigte sich die Messung im klinischen Alltag in ihrer damaligen Form als Prototyp schwierig. Bis zur Ermittlung der ersten aussagekräftigen Ergebnisse waren mehrere Arbeitsschritte nötig, was mit hohem Zeit- und Arbeitsaufwand verbunden war. Vom Zeitpunkt der Blutprobenentnahme bis zum ersten Ergebnis waren im Schnitt etwa 15-20 Minuten notwendig. Das Abzentrifugieren nahm davon 10 Minuten in Anspruch. Dies war notwendig, um klares von Blutprodukten freies Plasma zu gewinnen. War die Plasmaprobe auf Grund erhöhter Fettanteile oder anderen Blutprodukten trüb, so kam es zu falschen Werten bei der Messung. Diese Zeit würde aber fast dem Zeitaufwand entsprechen, die bei einer fehlerhaften Messung mit der ACT Methode benötigt würde (ACT > 1000 Sekunden). In diesem Falle würde eine fehlerhafte Messung über 10 Minuten dauern, und wenn die Messung als falsch interpretiert wird, führt dies zu erneuter ACT-Messung mit nachfolgender Wartezeit. Nichtsdestotrotz sollte man an der

Weiteroptimierung der LiSA-Methode arbeiten, so dass sich die Arbeitsschritte reduzieren und die Ergebnisse schneller zur Verfügung gestellt werden können.

4.8 IST DIE ACT-METHODE EIN SICHERES VERFAHREN?

Die Messgenauigkeit der üblichen ACT-Methode wurde durch viele Studien in Frage gestellt. Gravin et al. [51] haben in einer großen Studie mit 3880 Patienten die Messsicherheit der ACT Methode untersucht, wobei eine Ziel-ACT von 300 und 350 Sekunden festgelegt wurde. Die dafür benötigte Heparinmenge wurde vorher im Labor berechnet und dann verabreicht. Das Ergebnis zeigte große Variabilität bei den Messungen. Die ACT Methode konnte in 7% der Fälle die Ziel-ACT von 300 Sekunden und in 17% die Ziel-ACT von 350 Sekunden nicht erreichen. Garvin und Kollegen konnten bei dieser Studie zeigen, dass mit steigender Heparindosis die ACT-Methode ungenauer wurde. Dieses Ergebnis ist vergleichbar mit denen in der vorliegenden Studie. Kinder mit einem Körpergewicht < 10 kg bekamen initial 800 IE Heparin / kg KG. Bei diesen Kindern lag die ACT schon nach der ersten ACT-Messung außerhalb des Messbereiches (*out of range*), während mit der LiSA-Methode aus derselben Blutprobe genaue Heparinkonzentrationen gemessen werden konnten.

Metz und Keats [80] gaben in einer Studie 193 Patienten, die einer Herz-OP mit HLM-Einsatz unterzogen wurden, 300 IE/kg KG Heparin. Bei 51 Patienten (26,4%) waren die ACT-Werte <400 Sekunden, darunter 4 Patienten <300 Sekunden. Gravlee et al. [81] zeigten, dass die ACT bei Heparindosen von mehr als 300 IE/kg KG keine sichere Aussage über die Gerinnungssituation liefern kann. Ähnliche Ergebnisse zeigten Levy et al. [82].

Alle diese Studien stellen die Gültigkeit der ACT-Methode für ausreichende Antikoagulation in Frage, zumal diese Messmethode von vielen Störfaktoren, die gar nicht selten im klinischen Alltag vorkommen, beeinflusst werden kann. Diese Einflussfaktoren, neben Heparinkonzentrationen und Antithrombin III, können Thrombozytenzahl- oder Funktion sein, oder auch Fibrinogenspiegel,

Gerinnungsfaktoren, Medikamente wie Thrombozytenaggregationshemmer und die Temperatur besonders die Hypothermie [2].

Die neue Messmethode LiSA-H stellt eine der ersten Bausteine dar, um den Zusammenhang zwischen der ACT und Heparinkonzentration besser validieren zu können.

4.9 VORTEILE DER LISA-METHODE IM VERGLEICH ZU HEPCON®

Die genaue Funktionsweise und das Messprinzip des Hepcon® HMS sind in Abschnitt 1.5.2 in dargestellt.

Hepcon HMS®-System der Firma Medtronic HemoTec Inc. fand in den letzten Jahren in der Herzchirurgie weite Verbreitung und wird in manchen Zentren standardmäßig eingesetzt. Diese Methode soll in der Lage sein, die für jeden Patienten individuell benötigte Heparinmenge zur ausreichenden Antikoagulation während des kardiopulmonalen Bypasses genau zu berechnen.

Die Kosten für die Apparatur und die Testdurchführung sind insgesamt höher als die ACT-Methode. Viele Studien untersuchten die Effektivität, Genauigkeit und Handlungsfähigkeit dieses Systems als *point of care* Methode und Monitoringsystem zur Ermittlung des Heparinspiegel während des kardiopulmonalen Bypasses. Einig in ihrer Schlussfolgerung waren die Studien nicht, manche belegten die genaue Messungen der Heparinspiegel und konnten zeigen, dass postoperativ weniger Blutungen und Fremdblutgabe notwendig waren, andere konnten keinen signifikanten Unterschied oder eine Überlegenheit zu herkömmlichen ACT-Messgeräten zeigen [43].

Ohata et al. haben verminderte Blutung und Entzündungs-Marker-Aktivierung mit Hepcon® gezeigt, zudem auch einen signifikant niedrigeren Interleukin-8-Spiegel nach Protamingabe und Beendigung der extrakorporalen Zirkulation (EKZ) [46]. Despotis et al. zeigten in einer großen Studie, dass Patienten, die während der EKZ mit der Hepcon gescreent wurden, postoperativ weniger Blutungen und Transfusionsbedarf hatten, als Patienten in der ACT-Kontrollgruppe [48]. Ähnliche Ergebnisse zeigten Koster et al. [49].

Im Gegensatz dazu zeigten Beholz et al. in einer Studie, dass starke Blutungen in der Hepcon®-Gruppe intraoperativ mehr zu dokumentieren waren, was zu einer erhöhten Rate an autologen Retransfusion führte jedoch keine zusätzlichen Blutprodukte erforderlich machte [43]. Eine retrospektive Studie von Newsome et al. verglich Hepcon® und Rapidpoint® (Bayer HealthCare LLC, Tarrytown, NY) als Gerinnungs-Monitore. Sie zeigte eine erhöhte Blutungsneigung und eine höhere Notwendigkeit von Blutprodukten (sowohl Frischplasmen (FFP) als auch Erythrozytenkonzentrate) in der Hepcon®-Gruppe verglichen mit der Kontroll-ACT-Gruppe. Die Autoren schreiben dies der höheren Dosis Heparin zu, die in der Hepcon-Gruppe notwendig war [45]. Ähnlich zeigten Garvin et al. [51] in einer großen Studie mit 3880 Patienten, dass das Hepcon HMS-Plus-System vor Beginn des kardiopulmonalen Bypasses schlecht die richtigen Heparin-Bolus-Dosen für die nötige Antikoagulation während der EKZ abschätzt.

Schindler et al. ermittelten bei 14 Patienten mit angeborenen Herzfehlern im Alter zwischen 1 – 10 Jahren, die einer Herzoperation mit Hilfe der HLM unterzogen wurden, die Heparinkonzentrationen mit Hilfe der Hepcon®, ACT-Methode und dem Anti-Xa Assay-Test. Sie konnten zeigen, dass das Hepcon®-HMS keine messbaren Vorteile bei Operationen angeborener Herzfehler bieten kann, verglichen mit der ACT-Methode [94].

In einer klinischen Studie von Nolde et al. am Uniklinikum Hamburg im Jahr 2002 [93] wurden bei 33 Patienten, die einer aortokoronaren Bypass-Operation unterzogen wurden, das Hepcon®-System mit einer Protokoll-Gruppe durch Randomisierung verglichen. Bei der Protokoll-Gruppe wurde die Heparinwirksamkeit mit Bestimmung der Anti Xa-Aktivität gemessen. Als Ergebnis lag der postoperative Blutverlust in der Protokoll-Gruppe bei 740 vs. 509 ml geringfügig höher als in der Hepcon®-Gruppe ($p = 0,04$). Die Autoren sahen keine zwingende Indikation zum Einsatz des Hepcon®-Systems am Uniklinikum Hamburg, da der Transfusionsbedarf von heterologen Blutprodukten durch das Hepcon® nicht gesenkt werden konnte.

Das Messprinzip von Hepcon® basiert wie erwähnt auf der ACT-Messung der Blutprobe in 6 verschiedenen Kammern, die unterschiedliche Mengen von Protamin enthalten. Damit unterliegt diese Messung den unterschiedlichen Störfaktoren, die man von der herkömmlichen ACT-Messmethode kennt, wie z.B. Hypothermie und Hämodilution. Das macht diese Messmethode zu einem ungenauen Testverfahren.

Die LiSA-Methode in dieser Studie hingegen konnte bei Hypothermien und starken Hämodilution, die vor allem in der Kinderherzchirurgie aufgrund des geringen Körpergewichtes im Vergleich zur Erwachsenen-Herzchirurgie häufiger auftraten, genaue Heparinkonzentrationen liefern.

4.10 LIMITATION DER STUDIE UND AUSBLICK

Die Studie in dieser Arbeit ist eine orientierende offene nicht kontrollierte prospektive Studie mit einer geringen Zahl von Probanden. Diese geringe Zahl (n=30) erlaubte es nicht, Subgruppen zu bilden, um weitere Störfaktoren zu isolieren und die Ergebnisse der Messungen genauer zu validieren.

Ein weiteres Problem stellt die große Alter- und Gewichtsspanne der Patienten in der Studie dar. Das Alter erstreckte sich von 4 Tagen bis 22 Jahren, das Gewicht von 2,3 bis 56 kg. Die Hämodilution durch Gabe von unterschiedlichen kristalloiden Lösungen und Gerinnungsprodukten (zusätzlich zum Primingvolumen und Kardioplegielösungen), sowie der Blutverlust und deren Auswirkung auf die Hämodynamik könnte für die geringe Zahl der untersuchten Kinder somit unterschiedliche Auswirkungen nach sich ziehen und patientenindividuell betrachtet werden.

Es konnte jedoch gezeigt werden, dass eine schwache Korrelation zwischen der Plasma-Heparinkonzentrationen und der ACT-Zeit besteht. Von deutlicher Relevanz waren dann intra- und postoperativ die Blutungskomplikationen, wenn die ACT-Zeiten „*out of range*“ bei über 1000 Sekunden während des HLM-Bypasses lagen, dies wurde deutlich aufgezeigt.

Weitere kontrollierte Studien mit größerer Patientenzahl sind notwendig um die neue Messmethode genauer zu validieren, denn die ersten bis jetzt gezeigten Ergebnisse, sowohl in der Kinder- als auch in der Erwachsenenherzchirurgie sind vielversprechend. Validierung der neuen LiSA-Methode bei kleineren Heparingaben

im Vergleich zu Herz-Operationen z.B. in der Gefäßchirurgie und der Dialyse sind notwendig.

Es bedarf natürlich der Weiterentwicklung von Gerinnungs-Management-Systemen, die für den klinischen Alltag als *point of care* Methoden gut geeignet sind, da die ACT-Methode allein kein sicheres Verfahren darstellt, um ein optimales Gerinnungsmanagement während der herzchirurgischen Eingriffen zu ermöglichen.

Sicherlich sind zurzeit die Kosten für die Anschaffung der Apparatur und der Arbeitsaufwand für die neue LiSA-Methode zur direkten Heparinmessung im Blut ziemlich hoch, diese sind aber verglichen mit den Kosten, die durch starke postoperative Blutungen entstehen könnten (wie z.B. Bereitstellen von Blutprodukten wie Erythrozyten-, Thrombozytenkonzentrate oder Frischplasmen, sowie Einsatz von teuren Gerinnungsprodukten wie Novoseven® und PPSB bis hin zu Re-Operation) dann doch in Relation akzeptabel, wenn man bedenkt, dass die Blutungskomplikationen und die dadurch entstehenden Kosten mit einiger Wahrscheinlichkeit bei zusätzlicher Heparinbestimmung mit dem LiSA-Verfahren verhindert werden können.

Diese Studie zeigte deutlich, dass die ACT-Methode allein kein sicheres und zuverlässiges Verfahren ist, um das Gerinnungs-Management während der pädiatrischen Herzeingriffe mit Einsatz der HLM zu überwachen. Dies konnte auch bei Erwachsenen-Herzoperationen, wie die Studie am Uniklinikum Frankfurt am Main belegte, gezeigt werden. Daher sollte in der Zukunft die direkte Heparinbestimmung mit Hilfe der LiSA-H-Messmethode als Kombinationsverfahren mit der ACT-Methode eingesetzt werden, um vermehrte intra- und postoperative Blutungskomplikationen zu verringern.

5 Zusammenfassung

Ziel und Hintergrund der Studie:

Die Antikoagulationswirksamkeit von Heparin wird während der herzchirurgischen Eingriffe mit der ACT-Methode (activated clotting time) gemessen, dennoch wurde gezeigt, dass Heparinkonzentration und die ACT bei den Erwachsenen schwach korrelieren.

Ziel dieser Arbeit war, die genaue Korrelation zwischen der ACT und der tatsächlichen Heparinkonzentration im Blut bei pädiatrischen Herzeingriffen zu zeigen.

Methode und Material:

Mit Hilfe einer neuen Messmethode (LiSA-H: Light Scattering Analysis Method Heparin) wurde die Heparinkonzentration bei 30 Kindern (21 männlich, 9 weiblich, Durchschnittsalter $3,8 \pm 6$ Jahre, Gewicht 17 ± 16 kg), mit unterschiedlichen herzchirurgischen Eingriffen direkt im Blut gemessen. Parallel und aus der gleichen Blutprobe wurde die ACT mit der üblichen Methode im OP mit dem Gerät Hemochron Junior bestimmt. Protamin wurde am Ende der OP 1:1 zur Antagonisierung gegeben.

Das Prinzip der neuen Messmethode basiert auf der Tatsache, dass Heparin und Protamin einen Nanopartikelkomplex mit einander bilden. Dieser Komplex wird einer Lichtquelle in bestimmten Winkeln ausgesetzt und die verursachte Lichtstreuung, die proportional zu der Menge von Heparin verläuft, wurde bestimmt, und somit die Heparinkonzentration.

Ergebnisse:

Insgesamt wurden 210 LiSA-Messungen parallel zu ACT durchgeführt. Es kam in nur 36,7% der Fälle zu synchronen Verläufen zw. ACT – und LiSA-Kurven. In den restlichen 63,3% wurde keine Korrelation gezeigt. In den meisten asynchronen Verläufen zwischen ACT und Heparinkurven zeigten sich fehlerhafte ACT Messungen von > 1000 Sek. Hier kam es überwiegend zu starken intra- und

postoperativen Blutungen und bei insgesamt 5 Kindern sogar bei Tamponadegefahr und hämodynamischer Instabilität zu Rethorakotomien als Notfall-OP zur Blutstillung. Eine präzise Messung der Heparinkonzentration mit der neuen Messmethode (LiSA) war sogar bei fehlerhaften ACT-Messungen (ACT>1000 Sek.) möglich.

ACT und tatsächliche Heparinkonzentrationen erwiesen sich als disjunkte Parameter für die meisten Patienten, was darauf hinweist, dass die ACT kein zuverlässiger Parameter für die Antikoagulation ist.

Schlussfolgerung:

In der Kinder- und Erwachsenenherzchirurgie sollte der Antikoagulations- und Protaminisierungsstatus durch die direkte Heparinmessung im Blut in Kombination mit der ACT bestimmt werden, da die ACT Methode allein nicht zuverlässig ist.

6 Summary

Objective: The effectiveness of heparin anticoagulation during heart surgery is measured by means of the activated clotting time (ACT), though heparin and ACT have been shown to correlate only weakly with adults. The aim of this study was to correlate ACT measurements with heparin levels in pediatric heart patients.

Methods: In 30 children (21 male, mean age 3,3 years, mean weight 15 kg) undergoing cardiac surgery, heparin levels were measured using a novel method for an intraoperative direct determination of heparin and heparin-protamine complexes in blood based on a light scattering assay (LiSA). Briefly, an excess of protamine was added to a blood plasma sample from heparinised blood (< 1 ml) and heparin was determined from the light scattering caused by the nanoparticles formed from heparin and protamin. Heparin levels were only measured, but not considered to control the amounts of heparin and protamine in these 30 children. ACT was measured using a *Hemochron Junior*. Protamine was administered 1:1 to restore normal coagulation; additional protamine doses were administered according to ACT values and bleeding status.

Results: Accurate control of the heparin level with the novel method was possible even beyond the ACT limit (> 1000 s). ACT and heparin levels were found to be disjunct for most of the patients, indicating that ACT is not a reliable parameter for the anticoagulation status of patients during cardiac surgery. In spite of normal ACT, in the course of the surgical intervention increased heparin levels correlated with postoperative bleeding and hemodynamic instability in several patients.

Conclusions: In pediatric cardiac surgery, anticoagulation therapy and protaminization for extracorporeal circulation should be driven by direct analysis of heparin blood levels using a combination of ACT and LiSA and not by ACT alone.

7 Literaturverzeichnis

- 1) Rudolf J. Tschaut. Extrakorporale Zirkulation in Theorie und Praxis. 2. überarbeitete Auflage 2005. Pabst Science Publishers.
- 2) Jerrold H. Levy, MD, FAHA, and Roman M. Sniecinski, MD. Activated clotting time, Heparin Responses, and Antithrombin: Have we been wrong all these years? *Anesthesia & Analgesia*. 2010; 111(4):833-835.
- 3) Golenhofen, Physiologie heute, 2. Auflage 2000. Urban und Fischer Verlag.
- 4) Galina Leyvi et al., an Investigation of a New Activated Clotting Time "MAX-ACT" in Patients Undergoing Extracorporeal Circulation. *Anesthesia & Analgesia*. 2001; 92(3):578-583.
- 5) Rudolf Hänsel, Otto Sticher. Pharmakognosie- Phytopharmazie. 9. Auflage 2009. Springer Verlag.
- 6) Norbert R. Holger T. Christian W. Anästhesie compact: Leitfaden für die klinische Praxis. 4. überarbeitete und erweiterte Auflage 2012. Thieme Verlag.
- 7) Deiml R. ausgewählte Themen zur operativen Intensivmedizin. 6. überarbeitete und erweiterte Auflage 2012. Hamburg.
- 8) James R Zaidan et al. Rate of Protamine Administration: It's Effect on Heparin Reversal and Antithrombin Recovery after Coronary Artery Surgery. *Anesthesia & Analgesia*. 1986; 65(4):377-380.
- 9) Heinz Lüllmann, Klaus Mohr. Taschenatlas der Pharmakologie. 4. Überarbeitete und erweiterte Auflage. 2001. Thieme Verlag.

- 10) Hari G. Garg, Robert J. Linhardt, Charles A. Hales. Chemistry and Biology of Heparin and Heparin Sulfate. First edition 2005. Elsevier Verlag.
- 11) Kreuzig, Thomas. Kurzlehrbuch Biochemie. 10. Auflage. 2000. Urban und Fischer Verlag.
- 12) H. Renz-Polster, S. Krautzig. J. Braun. Basislehrbuch der inneren Medizin. 3. Auflage . 2004. Urban und Fischer Verlag.
- 13) Hans-Hasso Frey, Felix R. Althaus. Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin. 3. vollständig überarbeitete Auflage. 2010. Enke Verlag.
- 14) G J Despotis, V Levine, K S Filos, D Joiner-Maier and J H Joist. Hemofiltration during cardiopulmonary bypass: the effect on anti-Xa and anti-IIa heparin activity. *Anesthesia & Analgesia*. 1997; 84(3):479-483.
- 15) Johannes Frömke. Standardoperationen in Der Herzchirurgie. Auflage 2003. Steinkopff Verlag.
- 16) Weitz, J. I. Low-molecular-weight heparins. *The New England journal of medicine*. 1997; 337:688-699.
- 17) Nurmohamed, M. T., ten Cate H., ten Cate J. W.: low molecular heparin(oid)s. Clinical investigation and practical recommendations. *Drugs*. 1997; 53:736-751.
- 18) Schweitzer, E.: Krankenhauspharmazie. 1997; 18(7).
- 19) Arznei-Telegramm, 2009; 40(1).
- 20) Boneu B, Caranobe C, Sie P. Pharmacokinetics of heparin and low molecular weight heparin. *Baillieres Clin Haematol*. 1990; 3(3):531-544.

- 21) Wells PS, Anderson DR, Rodger MA, Forgie MA, Florack P, Touchie D, Morrow B, Gray L, O'Rourke K, Wells G, Kovacs J, Kovacs MJ. A randomized trial comparing 2 low-molecular-weight heparins for the outpatient treatment of deep vein thrombosis and pulmonary embolism. *Arch Intern Med.* 2005; 165(7):733-738.
- 22) Charbonnier BA, Fiessinger JN, Banga JD, Wenzel E, d'Azemar P, Sagnard L. Comparison of a once daily with a twice daily subcutaneous low molecular weight heparin regimen in the treatment of deep vein thrombosis. FRAXODI group. *Thromb Haemost.* 1998; 79(5):897-901.
- 23) Merli G, Spiro TE, Olsson CG, Abildgaard U, Davidson BL, Eldor A, Elias D, Grigg A, Musset D, Rodgers GM, Trowbridge AA, Yusen RD, Zawilska K; Enoxaparin Clinical Trial Group. Subcutaneous enoxaparin once or twice daily compared with intravenous unfractionated heparin for treatment of venous thromboembolic disease. *Ann Intern Med.* 2001; 134(3):191-202.
- 24) C. Schmid. Leitfaden Erwachsenenherzchirurgie. 2. Auflage 2007. Steinkopff Verlag.
- 25) G. J. Despotis, MD, A. L. Summerfield, MD, J. H. Joist, MD, PhD, L. T. Goodnough, MD, S. A. Santoro, MD, PhD, E. Spitznagel, PhD, J. L. Cox, MD, D. G. Lappas, MD. Comparison of activated coagulation time and whole blood heparin measurements with laboratory plasma anti-Xa heparin concentration in patients having cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1994; 108(6):1076-1082.
- 26) Yoshikazu Hamada, MD, Yoshiyuki Kameyama, MD, Hideyuki Narita, MD, Kirk T. Benson, MD and Hiroshi Goto, MD. Protamine After Heparin Produces Hypotension Resulting from Decreased Sympathetic Outflow Secondary to Increased Nitric Oxide in the Central Nervous System. *Anesthesia & Analgesia.* 2005; 100(1):33-37.

- 27) Goto H, Kushihashi T, Benson KT, et al. Heparin, protamine and ionized calcium in vitro and in vivo. *Anesthesia & Analgesia*. 1985; 64(11): 1081–1084.
- 28) Raikar GV, Hisamochi K, Raikar BLN, et al. Cardiopulmonary bypass, myocardial management and support techniques. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1996; 111:1240–1247.
- 29) Jimbo M, Suzuki H, Ichikawa M, et al. Role of nitric oxide in regulation of baroreceptor reflex. *J Auton Nerv Syst*. 1994; 50(2): 209–219.
- 30) Sakuma I, Togashi H, Yoshioka M, et al. NG-methyl-L-arginine, an inhibitor of L-arginine-derived nitric oxide synthesis, stimulates renal sympathetic nerve activity in vivo. *Circ Res*. 1992; 70(3): 607–611.
- 31) Komatsu H, Enzan K, Matsuura S, Kurosawa S, Mitsuhata H. Systemic hypotensive response to protamine following chronic inhibition of nitric oxide synthase in rats. *Can J Anaesth*. 1998; 45(12):1186-1189.
- 32) G J Despotis, V Levine, J H Joist, D Joiner-Maier and E Spitznagel. Antithrombin III during cardiac surgery: effect on response of activated clotting time to heparin and relationship to markers of hemostatic activation. *Anesthesia & Analgesia*. 1997; 85(3):498-506.
- 33) Greinacher, Andreas. Heparininduzierte Thrombozytopenie. *Dtsch Arztebl*. 2003; 100:34-35.
- 34) S. Alban. Pharmakologie der Heparine und der direkten Antikoagulanzen. *Hämostaseologie* 5/2008.
<http://www.schattauer.de/de/magazine/uebersicht/zeitschriften-a-z/haemostaseologie/inhalt/archiv/issue/334/manuscript/10762/show.html>

- 35) Habbab, A., Haft, J. Heparin resistance induced by intravenous nitroglycerin. A word of caution when both drugs are used concomitantly. *Arch Int Med.* 1987; 147(5):857-860.
- 36) Despotis GJ, Gravlee G, Filos K, Levy J. Anticoagulation monitoring during cardiac surgery: a review of current and emerging techniques. *Anesthesiology.* 1999; 91(4):1122-1151.
- 37) Turner Gomes SO, Nitschmann EP, Norman GR, Andrew ME, Williams WG: Effect of heparin loading during congenital heart operation on thrombin generation and blood loss. *Ann Thorac Surg.* 1997; 63(2):482–488.
- 38) D’Errico C, Shayevitz JR, Martindale SJ: Age-related differences in heparin sensitivity and heparin-protamine interactions in cardiac surgery patients. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 1996; 10(4):451–457.
- 39) Hattersely PG, activated coagulation time of whole blood. *the journal of the American Medical Association.* 1966; 196(5): 436 – 440.
- 40) Kesteven PJ, Pasaoglu I, Williams BT et al.. Significance of the whole blood activated clotting time in cardiopulmonary bypass. *J Cardiovasc Surg.* 1986; 27(1):85-89.
- 41) Cohen EJ, Camerlengo LJ, Dearing JP. Activated clotting times and cardiopulmonary bypass I: The effect of hemodilution and hypothermia upon activated clotting time. *J Extracorporeal Technol.* 1980; 12:139-141.
- 42) Culliford AT, Gitel SN, Starr N, Thomas ST, Baumann FG, Wessler S, Spencer FC. Lack of correlation between activated clotting time and plasma heparin during cardiopulmonary bypass. *Ann Surg.* 1981; 193(1): 105-111.

-
- 43) Beholz S, Grubitzsch H, Bergmann B, Wollert HG, Eckel L. Hemostasis management by use of Hepcon/HMS: increased bleeding without increased need for blood transfusion. *Thorac Cardiovasc Surg.* 1999; 47(5):322-327.
- 44) Murray DJ, Brosnahan WJ, Pennell B, Kapalanski D, Weiler JM, Olson J. Heparin detection by the activated coagulation time: a comparison of the sensitivity of coagulation tests and heparin assays. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 1997; 11(1):24-28.
- 45) Newsome J, Stipanovich K, Flaherty S. Comparison of heparin administration using the Rapidpoint Coag and Hepcon HMS. *J Extra-Corporeal Technol.* 2004; 36(2):139-144.
- 46) Ohata T, Sawa Y, Ohtake S, Nishimura M, Chan CJ, Suzuki K, Matsuda H. Clinical role of blood heparin level monitoring during open heart surgery. *Jpn J Thorac Cardiovasc Surg.* 1999; 47(12):600-606.
- 47) Shigeta O, Kojima H, Hiramatsu Y, Jikuya T, Terada Y, Atsumi N, Sakakibara Y, Nagasawa T, Mitsui T. Low-dose protamine based on heparin-protamine titration method reduces platelet dysfunction after cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999; 118:354-360.
- 48) Despotis GJ, Joist JH, Hogue CW Jr, Alsoufiev A, Kater K, Goodnough LT, Santoro SA, Spitznagel E, Rosenblum M, Lappas DG. The impact of heparin concentration and activated clotting time monitoring on blood conservation. A prospective, randomized evaluation in patients undergoing cardiac operation. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1995; 110(1):46-54.
- 49) Koster A, Fischer T, Praus M, Haberzettl H, Kuebler WM, Hetzer R, Kuppe H. Hemostatic activation and inflammatory response during cardiopulmonary bypass: impact of heparin management. *Anesthesiology.* 2002; 97(4):837-841.

- 50) Maurer J, Haselbach S, Klein O, Baykut D, Vogel V, Mäntele W. Analysis of the Complex Formation of Heparin with Protamine by Light Scattering and Analytical Ultracentrifugation: Implications for Blood Coagulation Management. *Journal of the American chemical society*. 2011; 133(4):1134–1140.
- 51) Sean Garvin, MD, Daniel C. FitzGerald, CCP, George Despotis, MD, Prem Shekar, MD and Simon C. Body, MBChB, MPH. Heparin Concentration–Based Anticoagulation for Cardiac Surgery Fails to Reliably Predict Heparin Bolus Dose Requirements. *Anesthesia & Analgesia*. 2010; 111(4):849-855.
- 52) Hartert HH: Blutgerinnungsstudien mit der Thrombelastographie, einem neuen Untersuchungsverfahren. *Klinische Wochenschrift*. 1948; 26(37,38): 577–583.
- 53) Lang T, von Depka M. Possibilities and limitations of thrombelastometry/-graphy. *Hamostaseologie*. 2006; 26(3 Suppl 1):20-29.
- 54) Michael Spannagle, Andreas Galazis. Point of care Analyse des Hämostasesystems. *J Lab Med*. 2002; 26 (1/2):68-76.
- 55) von Heymann C, Spies C, Grubitzsch H, Schönfeld H, Sander M, Volk T. Blutungen nach herzchirurgischen Operationen. *Hämostaseologie*. 2006; 26 (Suppl. 1):77–87.
- 56) Shander A, Moskowitz D, Rijhwani TS. the safety and efficacy of bloodless cardiac surgery. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth*. 2005; 9(1):53-63.
- 57) Dacey LJ, Munoz JJ, Baribeau YR, Johnson ER, Lahey SJ, Leavitt BJ, Quinn RD, Nugent WC, Birkmeyer JD, O'Connor GT. Reexploration for hemorrhage following coronary artery bypass grafting: incidence and risk factors. Northern

- New England Cardiovascular Disease Study Group. *Arch Surg.* 1998. 133(4):442-447.
- 58) Moulton MJ, Creswell LL, Mackey ME, Cox JL, Rosenbloom M. Reexploration for bleeding is a risk factor for adverse outcomes after cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1996; 111(5):1037-1046.
- 59) Unsworth-White MJ, Herriot A, Valencia O et al. Resternotomy for bleeding after cardiac operation: a marker for increased morbidity and mortality. *Ann Thorac Surg.* 1995; 59(3): 664–667.
- 60) Karkouti K, Wijeyesundera DN, Yau TM et al. The independent association of massive blood loss with mortality in cardiac surgery. *Transfusion.* 2004; 44(10):1453–1462.
- 61) Engoren MC, Habib RH, Zacharias A et al. Effect of blood transfusion on long-term survival after cardiac operation. *Ann Thorac Surg.* 2002; 74(4):1180–1186.
- 62) Campbell DJ, Dixon B, Kladis A et al. Activation of the kallikrein-kinin system by cardiopulmonary bypass in humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2001; 281(4):1059–1070.
- 63) Seiler, Christian. Aufbau einer photometrischen Lichtstreu-Apparatur. Bachelorarbeit. Goethe Universität Frankfurt am Main, Institut für Biophysik. 2010.
- 64) Gesiarz Viktor. Entwicklung einer Steuer- und Analysesoftware zur Bestimmung des Heparin Gehaltes im Blut mittels Lichtstreuungsmessung. Bachelorarbeit. Goethe Universität Frankfurt am Main, Institut für Biophysik. 2010.
- 65) Teien AN, Bjornson J: Heparin elimination in uraemic patients on haemodialysis. *Scand J Haemat.* 1976; 17(1):19-25.

- 66) Andrassy K, Salzmann W, Saggau W, Storch H, Ritz E: Is more heparin necessary for low-dose heparin prophylaxis in uremic patients? *Thrombos Haemostas.* 1981; 46(4):740-742.
- 67) Teien AN: Heparin elimination in patients with liver cirrhosis. *Thromb Haemostas.* 1977; 38(3):701-705.
- 68) Hirsh J, van Aken WG, Gallus AS, Dollery CT, Cade J.F, Yung WL: Heparin Kinetics in Venous Thrombosis and Pulmonary Embolism. *Circulation.* 1976; 53: 691-695.
- 69) Harenberg J, Schneider D, Heilmann L, Wolf H: Lack of anti-factor Xa activity in umbilical cord vein samples after subcutaneous administration of heparin or low molecular mass heparin in pregnant women. *Haemostasis.* 1993; 23(6):314-320.
- 70) J. Andresen, Unfraktionierte und Fraktionierte Heparine, Stand 09/2004, <http://.mh-hannover.de/fileadmin/kliniken/rheumatologie/download/heparin>.
- 71) Stephanie Haselbach. Validierung einer neuen Messmethode zur direkten Bestimmung der Heparin-Konzentration im Blut. Elektronische Universitätsbibliothek, Dissertation, Frankfurt am Main 2013.
- 72) Asskali et al. Thrombelastographische Gerinnungsanalyse nach in-vitro- und in-vivo-Hämodilution mit Hydroxyethylstärke (HES), *Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther.* 2002; 37(5):258-266.
- 73) Kretschmer V, Gombotz H, Rump G. Transfusionsmedizin - klinische Hämotherapie: Kurzlehrbuch für Klinik und Praxis : 54 Tabellen. Auflage 2008. Georg Thieme Verlag.
- 74) Dacey LJ, Munoz JJ, Baribeau YR, Johnson ER, Lahey SJ, Leavitt BJ, Quinn RD, Nugent WC, Birkmeyer JD, O'Connor GT. Reexploration for hemorrhage following coronary artery bypass grafting: incidence and risk factors. *Northern*

New England Cardiovascular Disease Study Group. Arch Surg. 1998; 133(4):442–447.

- 75) Eberhard Kochs, Hanswerner Bause, Jens Scholz. *Duale Reihe Anästhesie: Intensivmedizin, Notfallmedizin, Schmerztherapie*, 4. Auflage. Georg Thieme Verlag.
- 76) Hirsh J, Warkentin TE, Shaughnessy SG, Anand SS, Halperin JL, Raschke R, Granger C, Ohman EM, Dalen JE. Heparin and low-molecular-weight heparin: mechanisms of action, pharmacokinetics, dosing, monitoring, efficacy, and safety. *Chest. 2001; 119(1 Suppl):64-94.*
- 77) de Swart, CAM, Nijmeyer, B, Roelofs, JMM, et al. Kinetics of intravenously administered heparin in normal humans. *Blood. 1982; 60(6):1251-1258.*
- 78) Olsson, P, Lagergren, H, Ek, S. The elimination from plasma of intravenous heparin: an experimental study on dogs and humans. *Acta Med Scand. 1963; 173:619-630.*
- 79) Bjornsson, TO, Wolfram, BS, Kitchell, BB. Heparin kinetics determined by three assay methods. *Clin Pharmacol Ther. 1982; 31(1):104-113.*
- 80) Metz S, Keats AS. Low activated coagulation time during cardiopulmonary bypass does not increase postoperative bleeding. *Ann Thorac Surg. 1990; 49(3):440–444.*
- 81) Gravlee GP, Case LD, Angert KC, Rogers AT, Miller GS. Variability of the activated coagulation time. *Anesthesia & Analgesia. 1988; 67(5):469–472.*
- 82) Levy JH, Montes F, Szlam F, Hillyer CD. The in vitro effects of antithrombin III on the activated coagulation time in patients on heparin therapy. *Anesthesia & Analgesia. 2000; 90(5):1076–1079.*

- 83) Wahba A, Rothe G, Lodes H et al. The influence of the duration of cardiopulmonary bypass on coagulation, fibrinolysis and platelet function. *Thorac Cardiovasc Surg.* 2001; 49(3):153–156.
- 84) Laga S, Bollen H, Arnout J, Hoylaerts M, Meyns B. Heparin influences human platelet behavior in cardiac surgery with or without cardiopulmonary bypass. *Artif Organs.* 2005; 29(7):541–546.
- 85) Barrowcliffe TW, Johnson A, Eggleton CA, Kemball-Cook G, Thomas DP: Anti- coagulant activities of high and low-molecular-weight heparin fractions. *Br J Haematol.* 1979; 41: 573-582.
- 86) Charalambous CP, Zipitis CS, Keenan DJ. Chest reexploration in the intensive care unit after cardiac surgery: a safe alternative to returning to the operating theater. *Ann Thorac Surg.* 2006; 81(1):191–194.
- 87) Bouboulis N, Rivas LF, Kuo J, Dougenis D, Dark JH, Holden MP. Packing the chest: a useful technique for intractable bleeding after open heart operation. *Ann Thorac Surg.* 1994 Apr;57(4):856-60.
- 88) Sniecinski RM, Chandler WL. Activation of the hemostatic system during cardiopulmonary bypass. *Anesthesia & Analgesia.* 2011; 113(6):1319-1333.
- 89) Reinhard Larsen, Anästhesie und Intensivmedizin in Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie. 8. Auflage. Springer Verlag.
- 90) Chalmers J, Pullan M, Mediratta N, Poullis M. A need for speed? Bypass time and outcomes after isolated aortic valve replacement surgery. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2014; 19(1):21-26.
- 91) Bull BS, Korpman RA, Huse WM, Briggs BD. Heparin therapy during extracorporeal circulation: I – problems inherent in existing heparin protocols. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1975; 69(5):674-684.

-
- 92) Carr ME Jr, Carr SL. At high heparin concentrations, protamine concentrations which reverse heparin anticoagulant effects are insufficient to reverse heparin anti-platelet effects. *Thromb Res.* 1994; 75(6):617-30.
- 93) Matthias Nolde, Einfluss verschiedener Heparinisierungsprotokolle auf den postoperativen Blutverlust und das Gerinnungssystem bei kardiochirurgischen Operationen unter Einsatz der extrakorporalen Zirkulation. E-Dissertationen der Universität Hamburg. 2002.
- 94) Schindler E, Hertfelder H, Sinzobahamvy N, Zartner P. Heparin-Stoffwechsel während Operationen angeborener Herzfehler mit extrakorporaler Zirkulation. Deutsches Kinderherzzentrum, Sankt Augustin, Institut f. Hämatologie und Transfusionsmedizin, Universität Bonn. <http://www.uni-kiel.de/dgpk/Tagungen/dgpk38/AbstractsDGPK38.pdf>.
- 95) Sniecinski, Roman M. MD; Chandler, Wayne L. MD. Activation of the Hemostatic System During Cardiopulmonary Bypass. *Anesth Analg.* 2011; 113(6):1319-1333.

8 Anhang

8.1 PATIENTENINFORMATION UND AUFKLÄRUNG

Patienteninformation

Validierung einer neuen Messmethode zur direkten Bestimmung des Heparinspiegels im Blut.

Einleitung

Während der bevorstehenden Operation am Herzen wird Ihr Kind an eine Herz-Lungen-Maschine angeschlossen sein, die die Aufgabe des Herzens und der Lunge in einem bestimmten Zeitabschnitt während der Operation übernimmt. Für den Betrieb der Herz-Lungen-Maschine ist eine Hemmung der Blutgerinnung erforderlich. Zu diesem Zweck wird ein Medikament mit dem Namen „Heparin“ verwendet. Die Veränderungen der Aktivität Ihres Gerinnungssystems durch das Heparin werden während der Operation alle 15-20 Minuten kontrolliert.

Das aktuelle Messverfahren der Heparin-Wirkung beruht auf einer indirekten Messmethode, die die Blutgerinnung misst. In dieser Studie soll ein neues Messverfahren getestet werden, welches die direkte Heparin-Konzentration in Ihrem Blut erfasst.

Ziel der Studie

Durch die Erhebung der Messdaten der Blutgerinnungsuntersuchungen soll die herkömmliche Messmethode ACT (activated clotting time) mit einer neuen Messmethode verglichen werden.

Durch den Vergleich der Messdaten sollen Informationen zur Prüfung und Verbesserung der neuen Messmethode gesammelt werden. Durch das neue Messverfahren sollen in Zukunft Risiken der Operation, wie Blutungen und Thrombosen weiter minimiert werden.

Ablauf

Während der Operation werden routinemäßig (etwa alle 15-20 Minuten) Blutproben aus dem zentralen Venenkatheter entnommen, um mit den herkömmlichen Messverfahren die Aktivität Ihres Gerinnungssystems zu bestimmen. Gleichzeitig werden pro Messung zusätzlich 1-2 ml Blut als Probe für das neue Messverfahren verwendet. Außerhalb des Operationsfeldes wird das Blut so aufbereitet, dass es für die neue Messmethode geeignet ist. Die ermittelten Daten aus der herkömmlichen und aus der neuen Messmethode werden so gespeichert, dass Ihr Kind anonym bleibt.

Nebenwirkungen / Risiken

Für die Blutentnahme werden schon vorhandene Venenzugänge verwendet, die in der Operation bereits angelegt sind.

Es entstehen Ihrem Kind keine Risiken und Nebenwirkungen, die mit der Blutentnahme für die Studie verbunden sind. Die zusätzlich entnommene Menge von 1-2 ml Blut pro Probe - maximal 20 ml Blut insgesamt pro Operation - wird keine Auswirkung auf den Kreislauf haben und muss auch nicht durch Fremdblut ersetzt werden.

In dieser Studie handelt es sich lediglich um die Erfassung von Daten. Aufgrund der Messergebnisse werden keine therapeutischen Entscheidungen getroffen, so dass keine zusätzlichen Risiken für Ihr Kind entstehen.

Studienleiter:

Prof Dr. med. Andreas Böning, Direktor der Klinik für Herz-, Kinderherz- und Gefäßchirurgie, UKGM, Standort Giessen
Tel. 0641-9944300
Fax 0641-9944309

Einwilligungserklärung

Zur Teilnahme an einer Studie mit dem Thema:

Validierung einer neuen Meßmethode zur direkten Bestimmung des Heparinspiegels im Blut.

Name: _____ Vorname: _____
Pat. Nr.: _____ Geb.datum: _____ Größe: _____ Gewicht: _____

1.) Ich habe die von Frau/ Herr Dr. _____ durchgeführte Aufklärung über die Art und Durchführung, sowie die möglichen Risiken der Untersuchung verstanden und hatte die Möglichkeit, Fragen zu stellen. Ferner hatte ich die Gelegenheit, die Patienteninformation durchzulesen und Fragen dazu zu stellen. Die von mir gestellten Fragen wurden beantwortet. Ich konnte mir genügend Zeit nehmen, bevor ich meine Entscheidung zur Teilnahme an dieser Studie getroffen habe.

2. Die Teilnahme an dieser Studie ist freiwillig. Ich kann ohne Angabe von Gründen und ohne Nachteile meine Einwilligung zurückziehen. Eine derartige Entscheidung hat keinen Einfluss auf die weitere medizinische Behandlung.

3. Eine Kopie dieser Einwilligung habe ich von dem die Untersuchung durchführenden Arzt erhalten. Eine schriftliche Patienteninformation wurde mir ausgehändigt.

Ich bin mit der Aufzeichnung, der im Rahmen dieser Studie an meinem Kind erhobenen Krankheitsdaten und ihrer anonymisierten Verwendung, z.B. für Veröffentlichungen, einverstanden.

Ich erkläre mich stellvertretend für mein Kind bereit, an der Studie teilzunehmen.

Eine Kopie der Patienteninformation, Einwilligungserklärung und Datenschutz-erklärung habe ich erhalten. Das Original verbleibt beim Prüfarzt.

(Datum/Unterschrift des Patienten)

(Datum/Unterschrift des aufklärenden Arztes)

8.2 STUDIENPOSTER DGHTG-TAGUNG FREIBURG 14.02.2012:

ACT and Heparin levels are disjunct in pediatric cardiac surgery



Haj M.¹, Böning A.¹, Akintürk H.¹, Baykut, D.², Haselbach, S.², Vogel, V.², Maurer, J.² & Mäntele, W.²
¹ Klinik für Herz-, Kinderherz- und Gefäßchirurgie
 Universitätsklinikum Giessen &
² Institut für Biophysik
 Goethe-Universität Frankfurt a.M.

Einleitung: Die Antikoagulationswirksamkeit von Heparin wird während der herzchirurgischen Eingriffe mit ACT (activated clotting time) gemessen, dennoch wurde gezeigt, daß Heparinkonzentration und die ACT bei den Erwachsenen schwach korrelieren. Ziel dieser Arbeit war, die genaue Korrelation zwischen ACT und die tatsächliche Heparinkonzentration im Blut in den pädiatrischen Herzeingriffen zu zeigen.

Material und Methode: Mit Hilfe einer neuen Messmethode (LiSA: Light Scattering Analysis Method Fig. 1) wurde die Heparinkonzentration bei 30 Kindern, die unterschiedliche Herzeingriffe bekamen (21 männlich, 9 weiblich, Durchschnittsalter 3,8±6 Jahre, Gewicht 17±16 kg) direkt im Blut gemessen. Parallel und aus der gleichen Blutprobe wurde die ACT mit dem Gerät Hemochron Junior bestimmt. Protamin wurde am Ende der OP 1:1 zur Antagonisierung gegeben.

Das Prinzip der neuen Messmethode basiert auf der Tatsache, dass Heparin und Protamin einen Nanopartikelkomplex mit einander bilden (Fig. 2). Dieser Komplex wird einer Lichtquelle in bestimmten Winkel ausgesetzt und die verursachte Lichtstreuung, die proportional zu der Menge von Heparin verläuft, wurde bestimmt, und somit die Heparinkonzentration.

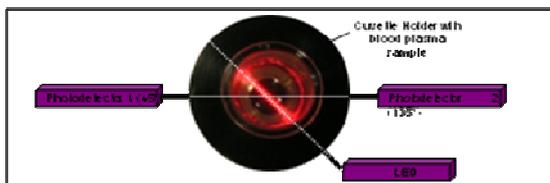
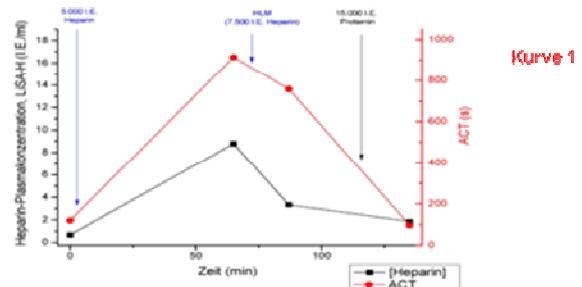
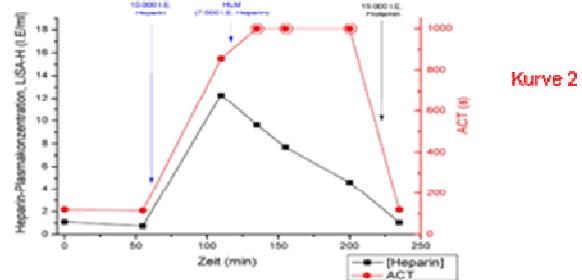


Fig 1: Prinzip der Heparin-Messung: das Licht aus der Lichtquelle kollimiert auf den Küvettenhalter. Nach Zugabe von Protamin zu dem heparinisierten Blut tritt Trübung auf, Partikelkomplexe werden gebildet und das Licht wird in einem Winkel von 45° bzw. 135° gestreut und durch Photodioden erfasst es kommt zur Lichtstreuung. Je mehr Heparin in der Plasmaprobe ist, desto höher ist die Streuintensität bei 45°. Somit ist es möglich, die Heparin-Konzentration in der Plasmaprobe aus der Streuintensität zu berechnen.

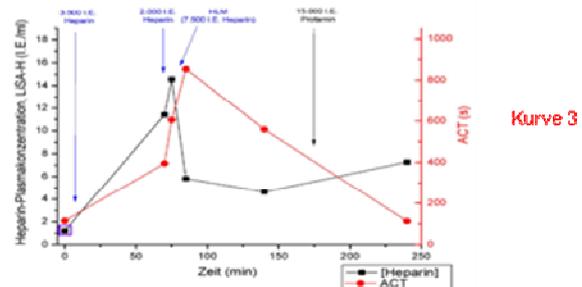
Ergebnisse: Insgesamt wurden 210 LiSA-Messungen parallel zu ACT durchgeführt. Es kam in nur 36,7% der Fälle zu synchronen Verläufen zw. ACT – und LiSA-Kurven (Kurve 1). In den restlichen 63,3% wurde keine Korrelation gezeigt (Fig. 3)



Eine präzise Messung der Heparinkonzentration mit der neuen Messmethode (LiSA) war sogar bei fehlerhaften ACT-Messungen (ACT>1000 Sek.) möglich (Kurve 2).



Es kam bei 6 Patienten zur erneuten Rethorakotomie aufgrund von starker Blutung postoperativ mit Tamponadefahr, eine chirurgische Blutungsquelle wurde bei allen 6 Kindern ausgeschlossen (Kurve 3). ACT und tatsächliche Heparinkonzentrationen erwiesen sich als disjunkte Parameter für die meisten Patienten, was darauf hinweist, dass die ACT kein zuverlässiger Parameter für den Antikoagulation ist.



Schlussfolgerung: in der Kinderherzchirurgie sollte der Gerinnungs- und Antikoagulationsstatus durch die direkte Heparinmessung und nicht NUR die ACT alleine bestimmt werden.

9 Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1.1 Heparin chemischer Aufbau.
- Abb. 1.2 Übersicht über die extrinsische und intrinsische Gerinnungskaskade.
- Abb. 1.3 schematische Darstellung zur Heparinwirkung.
- Abb. 1.4 Herz-Lungen-Maschine.
- Abb. 1.5 Blutungsursachen im Zusammenhang mit der HLM.
- Abb. 1.6 Einflussfaktoren auf die ACT-Messung
- Abb. 2.1 Aufbau der neuen LiSA-Mehtode.
- Abb. 2.2 schematische Darstellung zur Bildung von Nanopartikelkomplexen zw. Heparin und Protamin und der Kurvenverlauf mit der neuen Messmethode LiSA.
- Abb. 2.3 Korrelation zwischen Heparinkonzentrationen im LiSA und PiCT-Verfahren
- Abb. 2.4 Auswirkung der HLM auf die Dilution
- Abb. 3.1 Heparin-Halbwertzeiten bei den Kindern.
- Abb. 3.2 Patient Nr. 4, synchroner Kurvenverlauf zw. ACT und LiSA.
- Abb. 3.3 Patient Nr. 21, synchroner Verlauf zw. ACT und LiSA.
- Abb. 3.4 Patient Nr. 1.
- Abb. 3.5 Patient Nr. 2.
- Abb. 3.6 Patient Nr. 17.
- Abb. 3.7 Patient Nr. 24.
- Abb. 3.8 Patient Nr. 19.
- Abb. 3.9 Patient Nr. 3, asynchroner Verlauf.
- Abb. 3.10 Patient Nr. 16, asynchroner Verlauf, ACT > 1000 sek.
- Abb. 3.11 Patient Nr. 5, asynchroner Verlauf.
- Abb. 3.12-24 Pat. mit asynchronen Verlauf beider Kurven und ACT > 1000 Sek.
- Abb. 3.25-31 Pat. mit asynchronen Verlauf beider Kurven und ACT < 1000 Sek.
- Abb. 3.32 prozentuale Verteilung der synchronen und asynchronen Messungen bezogen auf ACT-Zeiten

10 Tabellenverzeichnis

Tab. 1.1	Vor- und Nachteile verschiedener Heparine
Tab. 1.2	Gerinnungsfaktoren und ihre Funktion.
Tab. 1.3	Heparindosis und entsprechende HWZ.
Tab. 1.4	Einflußgrößen auf Heparinwirkung und Metabolismus
Tab. 1.5	zugelassene NMH in Deutschland und Indikation.
Tab. 2.1	Patientenkollektiv.
Tab. 2.2	durchgeführte Operationen.
Tab. 2.3	präoperative Laborwerte der Patienten.
Tab. 3.1	postoperative Nachblutungsmengen.
Tab. 3.2	Flüssigkeitsbilanzen der operierten Kinder.
Tab. 3.3	Perioperative Daten der Antikoagulation.
Tab. 3.4	Anzahl der reoperierten Patienten in den entsprechenden Gruppen.

11 Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus - Liebig - Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, oder habe diese nachstehend spezifiziert. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.

Ort, Datum

Unterschrift

12 Danksagung

Zu allererst möchte ich Herren Prof. Dr. med. Andreas Böning für die Bereitstellung des Themas und die stets freundliche und motivierende Unterstützung bei dieser Arbeit danken. Des Weiteren möchte ich ihm danken für die Übernahme des Erstgutachters und die Möglichkeit der Promotion in seiner Klinik.

Herren Prof. Dr. med. Hakan Akintürk, Sektionsleiter des Kinderherzzentrums in Gießen, danke ich für die Möglichkeit, die Studie im Kinderherzzentrum durchführen zu dürfen.

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Werner Mäntele, Leiter des Instituts für Biophysik an der Goethe Universität Frankfurt am Main und seinen Mitarbeitern, die mir netterweise das LiSA-Messgerät zur Verfügung gestellt haben und vom Anfang an mit Rat und Tat zur Seite standen. Zu großem Dank bin ich meiner Kollegin Fr. Dr. Stephanie Haselbach für die Unterstützung bei der Durchführung der ersten Versuche im Kinderherzzentrum in Gießen verpflichtet.

Weiterhin möchte ich mich besonders bei Prof. Dr. med. Matthias Müller, Leiter der Kinder-Kardioanästhesie und seinem ganzen Team im Kinderherzzentrum für die intensive und freundliche Zusammenarbeit danken.

Mein letzter, aber größter Dank gilt meiner geliebten Ehefrau Fidaa für die liebevolle Unterstützung und ständige Motivation. Sie hat mit nicht endender Geduld, Aufmunterung und mit ihrer unverzichtbaren Mithilfe in allen Bereichen die Entstehung dieser Dissertation überhaupt möglich gemacht.

**Der Lebenslauf wurde aus der elektronischen
Version der Arbeit entfernt.**

**The curriculum vitae was removed from the
electronic version of the paper.**