

**Aus der Universitätsklinik
für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie Tübingen
Ärztlicher Direktor: Pofessor Dr. G. Ziemer**

**Hämokompatibilität von Oxygenatoren mit kovalenter
Heparinbeschichtung in einem HLM-Modell**

**Inaugural- Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von Jochen Matthias Kuder

aus Reutlingen

2004

Dekan: Professor Dr. C. D. Claussen
1. Berichterstatter: Professor Dr. G. Ziemer
2. Berichterstatter: Professor Dr. J. Geis-Gerstorfer

Gewidmet meinen Eltern

Gudrun und Edwin Kuder

1. Einleitung.....	6
1.1 Einführung	6
1.2 Zielsetzung.....	10
1.3 Allgemeiner Teil.....	11
1.3.1 Heparin und Protamin.....	11
1.3.2 Hämostase und Blutgerinnung unter besonderer Berücksichtigung der Kontaktphasenaktivierung.....	12
1.3.3 Kallikrein-Kinin-System.....	16
1.3.4 Faktor XII.....	18
1.3.5 Thrombozyten.....	19
1.3.6 β -Thromboglobulin.....	20
1.3.7 PMN-Elastase.....	21
1.4 Heparinbeschichtete Oxygenatoren.....	22
1.4.1 Wirkungsweise der Heparinbeschichtung.....	22
1.4.2 Beschichtungsarten.....	24
1.4.2.1 Carmeda bioactive surface.....	24
1.4.2.2 ZX/ZX+H-Beschichtung.....	25
 2. Material und Methoden.....	 26
2.1 Versuchsaufbau.....	26
2.1.1 Herz-Lungen-Maschinen-Modell.....	26
2.1.2 Beschreibung der Oxygenatoren.....	27
2.2 Parameter.....	28
2.3 Probenmaterial.....	29
2.3.1 Blutkonserven.....	29
2.3.1.1 Priming solution.....	29
2.3.1.2 variable Blutzusätze.....	30
2.3.2 Abnahmemodus.....	30
2.3.3 Blutentnahmen.....	31
2.3.4 Probenverarbeitung.....	31
2.4 Laborchemische Bestimmungen.....	33
2.4.1 Heparin.....	33
2.4.2 Kallikrein-like-activity.....	33
2.4.3 Faktor XII-like-activity.....	34
2.4.4 Thrombozyten.....	34
2.4.5 β -Thromboglobulin.....	35
2.4.6 PMN-Elastase.....	35
2.5 Statistik.....	36

3. Ergebnisse.....	37
3.1. Versuchsreihe 1.....	37
3.1.1 Heparin.....	37
3.1.2 Kallikrein-like-activity.....	39
3.1.3 Faktor XII-like-activity.....	41
3.1.4 Thrombozyten.....	43
3.1.5 β -Thromboglobulin.....	45
3.1.6 PMN-Elastase.....	47
4. Diskussion.....	49
5. Zusammenfassung.....	60
6. Tabellenanhang.....	65
7. Literaturverzeichnis.....	75

1. Einleitung

1.1 Einführung

Erst durch die Möglichkeit, mittels einer Herz-Lungen-Maschine (HLM) die Kreislauffunktion und den Gasaustausch aufrecht zu erhalten und damit die Versorgung des Organismus mit Sauerstoff zu gewährleisten, wurden Operationen am offenen Herzen möglich. Dies ist vor allem bei korrigierenden Eingriffen angeborener und erworbener Herzfehler, bei Bypassoperationen als Folge der koronaren Herzkrankheit sowie bei Herztransplantationen notwendig, welche ein temporäres Ausschalten der Pumpfunktion des Herzens erfordern.

Die Herz-Lungen-Maschine übernimmt dabei als extrakorporales Ersatzsystem die Pumpfunktion des Herzens sowie die Oxygenierungsfunktion der Lunge. Bereits 1937 gelang es dem Amerikaner John Gibbon in einem Experiment, die Kardiopulmonalfunktion zu übernehmen und den Organismus vorübergehend durch künstliche Oxygenierung ohne Schäden zu versorgen. Nach langjähriger experimenteller Vorarbeit gelang Gibbon am 6. Mai 1953 der Verschluss eines Vorhofseptumdefekt bei einer 18-jährigen Frau. Die Patientin wurde dabei 26 Minuten vollständig durch Gibbons Herz-Lungen-Maschine versorgt, während das Loch der Herzscheidewand verschlossen wurde. Innerhalb weniger Jahre entwickelten sich die offene Herzchirurgie und die Perfusionstechnik zu Routinemethoden. Während in den ersten Jahren die offene Korrektur vorwiegend kongenitaler Vitien das Operationsprogramm bestimmte, dominieren heute vor allem erworbene Herzerkrankungen. Besonders die Koronarchirurgie und die Klappenchirurgie bestimmen den Alltag einer herzchirurgischen Klinik.

Das verwendete Grundsystem einer Herz-Lungen-Maschine besteht dabei aus einer Pumpe, einem Oxygenator, einem venösen Reservoir, einem Hypothermiegerät und einem arteriellen Filter. Der Anschluß der Herz-Lungen-Maschine an das Kreislaufsystem des Patienten erfolgt dabei über die venae cavae superior et inferior oder den rechten Vorhof. Mit Hilfe einer Pumpe wird das Blut dem Oxygenator zugeführt, in welchen der Wärmeaustauscher meist integriert ist. Durch das Hypothermiegerät ist eine Senkung der Bluttemperatur auf 28-30°C und damit eine

Verringerung des Sauerstoffbedarfs während der Operation möglich. Anschließend fließt das Blut über einen arteriellen Filter wieder zurück in die Aorta ascendens.

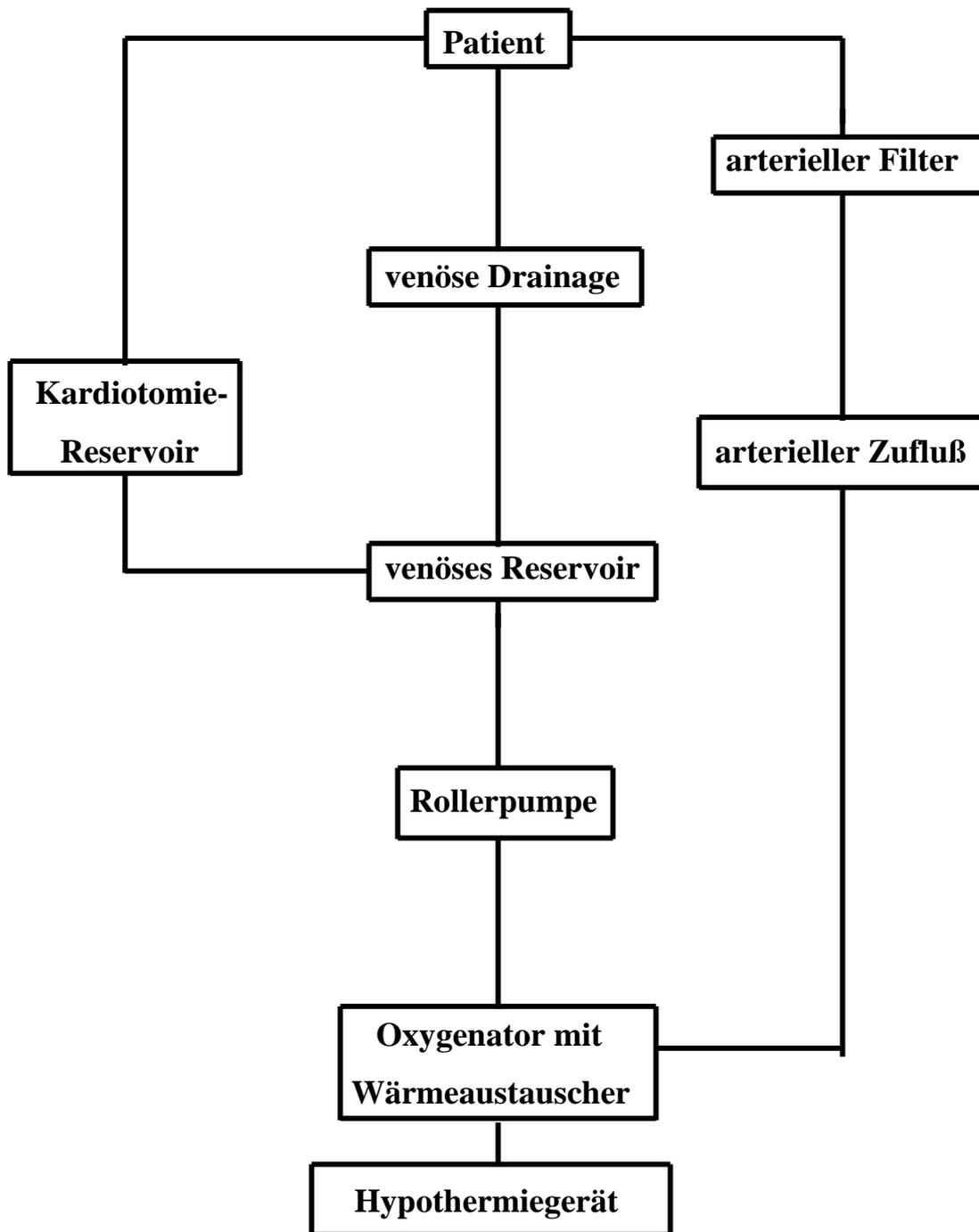


Abbildung 1: Schema eines HLM-Kreislaufsystems [159]

Als Oxygenatoren werden heute überwiegend Membranoxygenatoren verwendet. Hierbei sind Blut- und Gasphase durch eine Membran getrennt. Dies kommt den physiologischen Bedingungen am nächsten. Die Membran ist dabei meist als Kapillare gestaltet. Von der Gasseite her wird der Oxygenator mit einem Luft-Sauerstoffgemisch durchflutet. Aufgrund von Partialdruckdifferenzen diffundiert der Sauerstoff auf die Blutseite und Kohlendioxid im Gegenzug zur Gasseite.

Als Pumpen werden heute Rollerpumpen nach DeBakey und zunehmend auch Zentrifugalpumpen eingesetzt. Bei den Rollerpumpen handelt es sich um einen rotierenden Pumpenarm, welcher bei der Rotation den Schlauch alternierend komprimiert und auf diese Weise das Blut weiterleitet. Durch die dem Schlauchdurchmesser und -material individuell angepaßte Okklusionseinstellung hält sich die Traumatisierung des Blutes und damit auch die Hämolyse in tolerablen Grenzen [129].

Trotz technischer Fortschritte ist die unzureichende Hämokompatibilität der in einer Herz-Lungen-Maschine verwendeten Materialien nach wie vor ein ungelöstes Problem. So beträgt die blutkontaktierende Fremdoberfläche während der extrakorporalen Zirkulation zwischen 3-4 m², wobei allein 2-3 m² auf den Oxygenator entfallen [159]. Zusätzlich zu diesem Fremdoberflächenkontakt kommen noch die Prozesse des Gasaustausches sowie des Pumpens und Filterns, welche durch unphysiologische Druckgradienten und Scherkräfte ebenfalls auf die korpuskulären Blutkomponenten einwirken und zu einer Schädigung führen.

Postoperativ führt der Kontakt des Blutes mit den verschiedenen Oberflächen zu einem Postperfusionssyndrom, welches bei einzelnen Patienten bis zum systemischen Entzündungsreaktionssyndrom (SIRS: systemic inflammatory response syndrome), zum akuten Lungenversagen (ARDS: adult respiratory distress syndrome), zur Sepsis und zum Multiorganversagen führen kann [23],[31],[50],[109],[124],[150],[154],[163].

Die Ursachen hierfür sind multifaktoriell. Als erste Reaktion des Blutes auf die Fremdoberfläche wird die Proteinadsorption (Albumin, γ -Globulin und Fibrinogen) genannt. Diese Schicht verändert zunächst die Oberflächeneigenschaften und kann zu thrombogenen Oberflächen führen, auf welche das Blut mit Aggregation und Thrombenbildung reagiert: Thrombozyten bleiben haften, bilden dabei Agglomerate und setzen Inhaltsstoffe frei. Es kommt zur Aktivierung der Kontaktphase (Faktor XII-Kallikrein-Kinin-System), der intrinsischen und extrinsischen Gerinnung sowie der

Fibrinolyse. Zusätzlich zur Blutgerinnung kann durch den Werkstoffkontakt das Komplementsystem aktiviert werden. Blutschädigung in Form von Hämolyse stellt eine weitere Komplikation dar, wobei sich hierbei die werkstoffinduzierte von der strömungsbedingten Hämolyse unterscheiden läßt. Letztere tritt vor allem während der Durchströmung extrakorporaler Systeme auf [60].

Gegenstand intensiver Forschung sind deshalb die Entwicklung von Strategien zur Minimierung der durch die eingesetzten Fremdoberflächen induzierten Aktivierungsmechanismen. Dabei sind zwei sich komplett voneinander unterscheidende Vorgehen möglich.

Zum einen kann die Reduzierung der Oberflächenaktivierung durch Verbesserung der Hämokompatibilität der eingesetzten Materialien angestrebt werden, zum anderen kann versucht werden, die freigesetzten Schlüsselenzyme pharmakologisch zu inhibieren und somit eine Kaskadenaktivierung zu verhindern. Auf die letztgenannte Möglichkeit soll hier nicht näher eingegangen werden, da sie nicht Gegenstand der vorliegenden Arbeit ist.

Es scheint klar zu sein, dass die Thrombogenität eines Materials nicht so sehr von den Materialeigenschaften abhängt als vielmehr von der Unfähigkeit eines Materials, den aktiven Prozeß der Thrombeninhibierung und –auflösung zu simulieren, der ständig im Lumen der normalen Gefäß- oder Herzwände abläuft. Es ist bekannt, dass an den Endothelzellen Heparinsulfat angelagert ist, welches mit Antithrombin und den Koagulationsproteasen interagiert. Der Versuch, die Fremdoberflächen mit dem Antikoagulans Heparin zu beschichten stellte einen ersten Schritt dar, eine antithrombogene Oberfläche zu kreieren. Bereits 1963 berichteten Gott et al. [62] von einer Heparinbeschichtung an mit kolloidalem Graphit vorbehandelten Kunststoffen. Es folgte eine ständige Verbesserung der Beschichtungstechniken, die auch heute noch anhält. 1983 beschrieben Larm et al. [96] die Methode der Endpunktbesfestigung von Heparin durch kovalente Bindung. Es gelang dadurch, die aktive Antikoagulationssequenz des Heparinmoleküls zu bewahren und die thromboresistente Eigenschaft der Heparinsulfat-Glykoproteide des intakten Gefäßendothels in gewissen Grenzen nachzuahmen. Die aktive Sequenz des Heparins, das spezifische AT III bindende Polysaccharid bleibt bei dieser Technik der Endpunktbefestigung erhalten. Diese Technik wird als Carmeda-bioactive-surface (CBAS) bezeichnet. In vielen tierexperimentellen und klinischen Studien konnte gezeigt werden, dass

heparinbeschichtete Oxygenationssysteme zu einer signifikanten Reduzierung der Aktivierung der Kontaktphase und des Komplementsystems, der Granulozytenschädigung, der Thrombozytenaktivierung, der Hämostasestörungen und der Blutverluste führen. Es ist jedoch zu bedenken, daß die Aktivierung der Blutgerinnung auch von der individuellen Reaktionslage des Patienten sowie vom Operateur und dessen Operationstechnik beeinflußt werden kann.

1.2 Zielsetzung

Zielsetzung dieser Arbeit war es, die Situation der extrakorporalen Zirkulation realitätsnah zu simulieren und die Effekte auf Kontaktphasenaktivierung und intrinsisches Gerinnungssystem sowie auf Thrombozyten- und Granulozytenzahl und -aktivierung zu untersuchen.

1.3 Allgemeiner Teil

1.3.1 Heparin und Protamin

Im Jahre 1916 isolierte der Mediziner McLean einen gerinnungshemmenden Stoff aus Leberextrakten [104]. Howell und Holt erkannten 1918 die Bedeutung dieser Substanz und gaben ihr nach dem Ursprungsorgan den Namen Heparin. Auch wenn Heparin beim Menschen wahrscheinlich von verschiedenen Zelltypen produziert wird, gilt es als sicher, dass eine große Menge aus basophilen Granulozyten und Mastzellen des Bindegewebes stammt [80][88]. 1925 gelang es dann Jorpes die chemische Struktur des Heparins aufzuklären.

Heparin ist ein wasserlösliches Glykosaminoglykangemisch unterschiedlicher Kettenlänge mit einem Molekulargewicht von 3000-30000 Dalton, bei einem mittleren Molekulargewicht von 12000-15000 Dalton [65]. Das Heparinmolekül setzt sich aus sich wiederholenden Tetrasachariden zusammen, an die Sulfatreste als funktionelle Gruppen gebunden sind. Kettenlänge, die Art der glykosidischen Bindung sowie Anzahl und Position der Sulfatreste sind für die antikoagulatorische Wirkung entscheidend [61],[165].

Heparin entfaltet seine antikoagulatorische Wirkung, indem es sich einem AT III-Molekül anlagert und damit dessen Affinität zu Thrombin um bis zum 1000-fachen erhöht [135],[156],[157]. Heparin übt dabei nur einen katalytischen Effekt aus und steht somit für einen erneuten Reaktionszyklus zur Verfügung. Gleichzeitig bewirkt die Konformationsänderung des AT III Moleküls eine Wirkungsverstärkung der Inhibition der Faktoren IXa, Xa, XIa, XIIa und von Kallikrein [133],[164]. Es werden also alle Serinproteasen, die bei der Kontaktphasenaktivierung mitwirken, gehemmt. Je nach Molekulargewicht fällt die Inhibition der einzelnen Faktoren verschieden stark aus [3]. Kommen niedermolekulare Heparine zum Einsatz, führt dies eher zu einer Antifaktor Xa- Aktivitätserhöhung sowie zu einer vermehrten Inhibition der Faktoren XIIa und Kallikrein. Hochmolekulare Heparine hingegen hemmen vermehrt die Faktoren IXa, XIa und Thrombin [78]. Außer den gerinnungshemmenden Wirkungen besitzt das Heparin auch eine antiphlogistische Komponente, sowie Einfluß auf den Fettstoffwechsel und die Zellproliferation [44],[112].

Bei den durchgeführten Modellversuchen wird das Heparin eingesetzt, um die durch die hämoinkompatiblen Oberflächen des Oxygenators und des Schlauchsystems ausgelöste Aktivierung der Blutgerinnung zu verhindern [102]. Zum Versuchsende wird das Heparin durch Protaminchlorid oder Protaminsulfat in einem schwerlöslichen Komplex gebunden und damit neutralisiert [7],[68]. Protamine sind Basisproteine mit niedrigerem Molekulargewicht, die in vitro stark an Heparin binden und damit die gerinnungshemmende Wirkung aufheben. In vivo interagieren die Protamine jedoch auch mit den Thrombozyten, dem Fibrinogen und anderen Plasmaproteinen und haben ihre eigene gerinnungshemmende Wirkung. Aus diesem Grund wird die minimal nötige Protaminmenge verabreicht, die erforderlich ist, um die im Plasma vorliegende Heparinmenge zu neutralisieren.

1.3.2 Hämostase und Blutgerinnung unter besonderer Berücksichtigung der Kontaktphasenaktivierung

Nur das Zusammenwirken von Plasma- und Gewebsfaktoren sowie Thrombozyten führt zur erfolgreichen Hämostase und stellt so einen wirksamen Schutz des Organismus gegen Blutverlust bei Verletzungen dar.

In der Phase der primären Hämostase kontrahieren sich die Blutgefäße reflektorisch, was durch zahlreiche vasokonstriktorische Substanzen wie Serotonin, Katecholamine und Thromboxan A₂ unterstützt wird. Auf diese Weise wird der Blutstrom verlangsamt und die thrombozytäre und plasmatische Blutgerinnung gefördert [185]. Als erster Schritt der zellulären Phase erfolgt die Adhäsion von Thrombozyten an die freiliegenden Kollagenfasern. Die Thrombozyten werden aktiviert, verändern dabei ihre Morphologie und setzen Substanzen wie ADP, Thromboxan A₂, plättchenaktivierenden Faktor, Serotonin, Katecholamine, Plättchenfaktor 4 und β -Thromboglobulin frei. Dies führt zu einer irreversiblen Aggregation der Thrombozyten, die so ein zelluläres Koagulum bilden.

Während der Hämostase werden die in inaktiver Form vorliegenden Plasmafaktoren in ihre aktive Form überführt, welche dann wiederum den nächsten Schritt der Gerinnungskaskade aktivieren. Man unterscheidet dabei das intrinsische vom extrinsischen System, welche jedoch nicht als getrennt voneinander funktionierend

betrachtet werden können. Vielmehr beeinflussen sich diese beiden Systeme, die in steter Interaktion stehen und in eine gemeinsame Endstrecke münden, an deren Anfang die Aktivierung des Faktors X und am Ende die Bildung von stabilem Fibrin steht, welches das zelluläre Koagulum verfestigt.

Die Aktivierung des Faktors X erfolgt dabei in Gegenwart der Faktoren VIII, IXa, Plättchenfaktor 3 und Calcium. Der aktivierte Faktor Xa wiederum wandelt zusammen mit Faktor Va, Calciumionen und Plättchenfaktor 3, Prothrombin in Thrombin um. Thrombin spaltet seinerseits aus Fibrinogen die Fibrinopeptide A und B ab. Die so entstandenen Fibrinmonomere polymerisieren zu instabilem Fibrin, welches sich unter dem Einfluß des fibrinstabilisierenden Faktors XIII in ein unlösliches Fibrinnetz umwandelt. Dieses Fibrinnetz bildet zusammen mit sich darin verfangenden Erythrozyten und Thrombozyten den endgültigen gemischten Thrombus, der im Laufe der Zeit mit Endothel überzogen wird und somit zu einem dauerhaften Verschuß der Läsion führt [92],[145].

Extrinsisches System

Das extrinsische System wird durch Zerstörung von Gewebe und dadurch bedingter Freisetzung von Gewebsthromboplastin (Faktor III) aktiviert. Dieses aktiviert Faktor VII, welcher als Komplex mit Phospholipiden und Calciumionen zur Aktivierung von Faktor X führt [92],[123]. Faktor VIIa aktiviert jedoch nicht nur Faktor X, sondern greift durch die Aktivierung von Faktor XI zu Faktor XIa in das intrinsische System ein. Diese Interaktion stellt einen wichtigen Auslösemechanismus für den Ablauf der Blutgerinnung dar [185].

Dies erklärt auch, warum angeborene Präkallikrein-, Faktor XII- oder XI- Defekte keine schweren Hämostasestörungen verursachen.

Tabelle: Zusammenfassung der bekannten Blutgerinnungsfaktoren:

Faktor	Synonyme	Konz. im Plasma (g/l)
I	Fibrinogen	2,0-4,0
II	Prothrombin	0,1
III	Gewebsthromboplastin	-
IV	Calciumionen	2,15-2,75 (mmol/l)
V	Proaccelerin	0,01
VI	nicht bekannt	-
VII	Prokonvertin	0,0005
VIII	Antihämophiler Faktor	0,01-0,02
IX	Christmas Faktor	0,003
X	Stuart Prower Faktor	0,01
XI	Plasmathromboplastin antecedent (PTA)	0,005
XII	Hagemann Faktor	0,025-0,04
XIII	Fibrinstabilisierender Faktor	0,01-0,02
PKK	Fletcher Faktor	0,05
HMWK	Fitzgerald Faktor	0,06

Intrinsic System

- Thrombozytenadhäsion
- Thrombozytenaggregation
- visköse Metamorphose mit Freisetzung von PF3
- Kontaktaktivierung

XII — XIIa

XI — XIa

IX — IXa
+Calcium
+PF3,+VIIIa
→ Komplex

VIII
|
VIIIa

X — Xa — X

+V, Calcium, PF3, Phospholide
→ Komplex

Thrombin (IIa) — Prothrombin (II)

Fibrinogen (I) — Fibrinmonomere

unstabiles Fibrin

XIII

XIIIa
+Calcium

stabiles Fibrinmonomer

Extrinsic System

- Zerstörung von Gewebe,
- Freisetzung von Gewebsthrombokinase (III)

VIIa — VII

+Calcium
+Phospholipide
→ Komplex

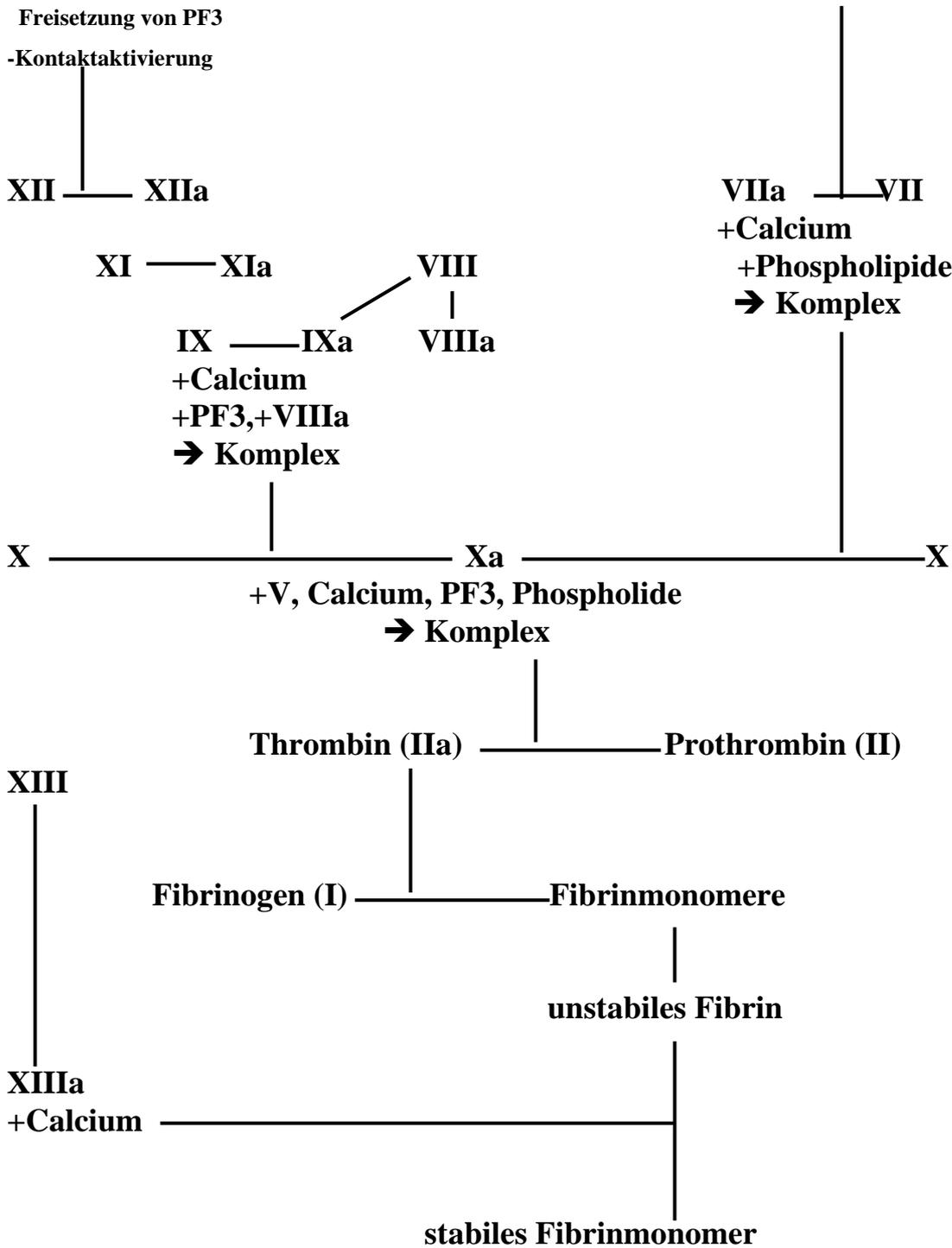


Abbildung 2: Schema der Blutgerinnung

Intrinsisches System

Wird Plasma mit negativ geladenen Oberflächen wie Dextran-Sulfat, Silikon, Glas, Kollagen oder auch Zellfragmenten und bakteriellen Endotoxinen in Kontakt gebracht, kommt es zu einer Voraktivierung von Faktor XII und damit des intrinsischen Systems. Dieser als Kontaktphasenaktivierung bezeichnete Vorgang ist sehr komplex. Durch die Voraktivierung entsteht autokatalytisch eine geringe Menge Faktor XIIa, der dann die Startreaktion des Kallikrein-Kinin-Systems initiiert. Auf diese Weise wird aus Präkallikrein (PKK) Kallikrein (KK) gebildet, welches die weitere Aktivierung von Faktor XII zu Faktor XIIa durch Proteolyse herbeiführt. Zur Aktivierung des Faktors XI zu Faktor XIa ist neben Faktor XII die Anwesenheit von hochmolekularem Kininogen (HMWK) notwendig. Die ersten beiden Schritte der Kontaktphasenaktivierung sind also eng mit dem Kallikrein-Kinin-System gekoppelt. Aus diesem Grund werden die Faktoren XII und XI sowie PKK und HMWK zur Kontaktphase der Blutgerinnung gezählt [8].

Faktor XIa aktiviert in oben genannter Art und Weise Faktor X und mündet an dieser Stelle zusammen mit dem extrinsischen System in die oben beschriebene gemeinsame Endstrecke der Blutgerinnung.

1.3.3 Kallikrein-Kinin-System

1925 beschrieb Frey neue blutdrucksenkende Faktoren, welche später den Namen Kallikreine erhielten [46]. Kallikreine gehören zur Klasse der Serinproteinasen mit trypsinähnlicher Spezifität. Sie werden durch limitierte Proteolyse ihrer Zymogene aktiviert und durch spezifische Proteinaseinhibitoren inaktiviert. Zu ihren natürlichen Substraten gehören die Kininogene, die hochmolekularen Vorstufen der Kinine.

Man unterscheidet heute zwei Kallikreine, die zu unterschiedlichen Kinin-Systemen gehören:

1. Das Organ-Kallikrein-System

Die hier zugehörigen Organkallikreine werden durch Trypsin aktiviert und spalten selbst LMW-Kininogen zu pharmakologisch aktiven Kallidinen. Sie kommen vor allem in Drüsen, Sperma aber auch im Urin und im Dünndarm vor.

2. Das Plasma-Kallikrein-System

Hier wird das Zymogen des Kallikreins, das Präkallikrein, auch Fletcher-Faktor genannt, durch eine limitierte Proteolyse zu Plasma-Kallikrein aktiviert [41]. Das Plasmakallikrein findet sich, wie der Name schon andeutet, nur im Blut, in dem es überwiegend in seiner Vorstufe, dem Präkallikrein, einem Glykoprotein, vorliegt [47], [48], [56].

Die Spaltung des Präkallikreins wird durch den aktivierten Faktor XIIa bewirkt. Es wird jedoch auch eine Autoaktivierung des Präkallikreins beobachtet [149]. Das dabei entstehende Kallikrein hat eine proteolytische Aktivität gegenüber hochmolekularem Kininogen (HMWK), was zur Bildung des Bradykinins führt. Das Bradykinin ist einer der potentesten Vasodilatoren bei Säugetieren [30],[74]. Desweiteren sind die Kinine an der Schmerzinduktion beteiligt, erhöhen die Kapillarpermeabilität, führen zur chemotaktischen Aktivierung der neutrophilen Granulozyten und spiegeln somit einige Bestandteile der Entzündungsreaktion wieder. Zusammen mit der Fähigkeit Histamin aus den Mastzellen der Lunge freizusetzen [36], führt dies zu einer starken Hypotension, die bis zum Schock führen kann [77],[113]. Dies wirkt sich bei der extrakorporalen Zirkulation verstärkt aus, da der Lungenkreislauf, der bei der Elimination der Kinine eine wichtige Rolle spielt, umgangen wird.

Plasmakallikrein und HMWK sind wichtige Komponenten der Aktivierung der intrinsischen Blutgerinnung, die durch Kontakt des Blutes mit negativ geladenen Oberflächen (Kontaktphase) in Gang gesetzt wird. Gelelektrophoretisch lassen sich zwei molekulare Varianten des Präkallikreins mit einem Molekulargewicht von 85000 bzw. 88000 D unterscheiden [16]. Die Normalkonzentration im Blut beträgt 50 µg/ml. Desweiteren ist Plasmakallikrein in der Lage den Faktor VII zu aktivieren, wodurch eine Verbindung zum extrinsischen System besteht [67].

Meßbare Kallikreinspiegel hingegen lassen sich bei gesunden Personen im Plasma nicht feststellen, da die Inaktivierung von Plasma-Kallikrein durch mehrere Plasmaprotease-

Inhibitoren gewährleistet wird [64]. Als Hauptinhibitor wird hierbei C1-Inhibitor angesehen, der durch Reaktion mit dem aktiven Zentrum des Kallikreins zur vollständigen Inhibition desselben führt [1],[58],[101],[118]. Der zweite wichtige Inhibitor ist das α_2 -Makroglobulin [29],[103]. Weitere unbedeutendere Inhibitoren sind der Kallikrein-Inhibitor 3, ATIII, α_1 -Antitrypsin und α_2 -Antiplasmin [54],[55],[164].

Als ein Maß für die Spontanaktivität des vorhandenen Plasma-Kallikreins wurde die Kallikrein-like-activity (Norm 70-100 U/l) bestimmt [56]. Dem plasmatischen Kallikrein kommt zusammen mit Faktor XII, wie oben bereits beschrieben, eine zentrale Rolle bei der Kontaktphasenaktivierung zu [51],[52],[63]. Bei einem Plasmakallikreinmangel kommt es zu einem Defekt der Hämostase, der durch Organkallikrein nicht ausgeglichen werden kann [37],[186].

Neben der hämostasefördernden Wirkung spielt das Kallikrein auch eine Rolle in der Fibrinolyse, indem es eine katalytische Wirkung sowohl auf den Plasminogen-Proaktivator, wie auch auf Plasminogen ausübt [15],[125].

Als weitere Wirkung des Kallikreins ist noch die aktivierende Rolle in Bezug auf das Komplementsystem zu nennen.

1.3.4 Faktor XII

Der Faktor XII oder auch Hagemann-Faktor genannt ist das zentrale Enzym der Kontaktphasenaktivierung. Es handelt sich dabei um ein Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 90 000 D [49], welches in der Leber synthetisiert wird und im Plasma unter physiologischen Bedingungen in einer Konzentration von 25-40 $\mu\text{g/ml}$ vorhanden ist. In der Elektrophorese wandert der Hagemann-Faktor als β -Globulin.

Beim Kontakt mit negativ geladenen Oberflächen wie Dextran-Sulfat, Silikon, Glas, Kollagen oder auch Zellfragmenten und bakteriellen Endotoxinen stellt die Aktivierung des Faktor XII den ersten Schritt des intrinsischen Gerinnungssystems und damit der Kontaktphasenaktivierung dar. Durch die Voraktivierung des Faktor XII entsteht autokatalytisch eine geringe Menge α -Faktor XIIa, aus welchem durch erneute Proteolyse β -Faktor XIIa freigesetzt wird. Beide können aus Präkallikrein (PKK) Kallikrein (KK) bilden [134]. α -Faktor XIIa bleibt oberflächengebunden und ist bei der

Aktivierung von Faktor XI 100-fach potenter als β -Faktor XIIa [26],[27], welches seine Oberflächenbindungsfähigkeit verloren hat und deshalb im Plasma zirkuliert. β -Faktor XIIa bewirkt sowohl eine Aktivierung des Komplementsystems auf alternativem Weg über C_3 , als auch klassisch über die c_1q -Komponente [57],[191]. Die Hauptaufgabe von β -Faktor XIIa besteht aber in der Aktivierung des im Plasma gelösten Präkallikreins zu Kallikrein, was über den positiven Feedback-Mechanismus zu einer explosionsartigen Aktivierung von Faktor XII führt [17],[25],[76].

Im weiteren Verlauf dient der aktivierte Faktor XII, wie oben bereits beschrieben, der Fortführung des intrinsischen Blutgerinnungsweges durch Aktivierung von Faktor XI, wie auch der Aktivierung von Faktor VII, wodurch eine Verbindung zum extrinsischen System besteht [141],[142].

Das fibrinolytische System wird von Faktor XII über zwei Arten beeinflusst. Zum einen findet eine direkte Umwandlung von Plasminogen-Proaktivator zu Plasminogen-Aktivator und Plasminogen zu Plasmin statt [84],[136], zum anderen wird die Fibrinolyse auf indirektem Weg über das Plasmakallikrein beeinflusst.

Inhibitoren des Faktors XIIa sind C_1 -Inhibitor, ATIII, und α_2 -Antiplasmin, wobei C_1 -Inhibitor einen Anteil von 90 % an der Inhibition besitzt.

1.3.5 Thrombozyten

Thrombozyten besitzen keinen Zellkern, haben einen Durchmesser von 3 μm , eine Dicke von 1 μm und entstehen durch Plasmaabschnürung aus den Megakaryozyten des Knochenmarks. Ihre Lebensdauer im Plasma beträgt etwa 7 Tage; der Abbau erfolgt durch Phagozytose in Milz und Leber. Pro μl Blut findet man etwa 150 000-300 000 Thrombozyten. Ein Rückgang ihrer Anzahl auf unter 60 000/ μl wird als kritisch angesehen und führt zu Gerinnungsstörungen. In gefärbten Ausstrichpräparaten erkennt man basophile Körnchen in einer zentralen Zone, dem Granulomer, welches vom helleren Hyalomer umgeben ist. Während das Hyalomer keine auffälligen Ultrastrukturen aufweist, unterscheidet man im Granulomer α - (Lysosomen?), β - (Mitochondrien), γ - (Tubuli und Mikrobläschen), δ - (Siderosomen) und ϵ -Granula (Glykogen).

Die Plättchenfaktoren 1 und 3 befinden sich membrangebunden in der Granulomerfraktion, die Plättchenfaktoren 2 und 4 im Hyalomer. Thrombozyten enthalten die Enzyme der Glykolyse, des Pentosephosphatshunts, des Zitronensäurezyklus und der Atemkette sowie mehrere ATPasen. Außerdem sind im Hyalomer biologisch aktive Amine wie beispielsweise Serotonin vorhanden [129].

Physiologisch sind die Thrombozyten für die Aufrechterhaltung der Hämostase wichtig. Wird das Endothel verletzt, lagern sich die Thrombozyten an dieser Stelle an, degranulieren, aggregieren und setzen neben ihren Plättchenfaktoren, welche das intrinsische System aktivieren unter anderem auch Fibrinogen und Calcium frei, die zusammen mit den Faktoren V und VIII zur Fibrinbildung zwischen den Thrombozyten und somit zur irreversiblen Aggregation führen.

Außer an der Blutgerinnung sind die Thrombozyten auch noch an der Entstehung von Entzündungsreaktionen beteiligt.

1.3.6 β -Thromboglobulin

Bereits 1958 beschrieben Salmon und Bounameaux [137] ein plättchenspezifisches Protein, welches sie aufgrund der β -Mobilität in der Elektrophorese β -Globulin nannten. Zehn Jahre später berichteten Davey und Lüscher [34] über ihre Versuche, in denen der Nachweis der in vitro Freisetzung dieses Proteins unter dem Einfluß von Thrombin gelang. 1975 isolierte Moore [108] dieses Protein aus gereinigten Thrombozyten nach Thrombin-induzierter Thrombozytenaggregation. Aufgrund seiner Lokalisation in den Thrombozyten wurde es β -Thromboglobulin genannt. 1978 konnten Neumeier und Vogt [117] in einer präliminären Studie zeigen, dass eine gute Korrelation zwischen der Thrombozytenzahl und dem β -TG des Serums besteht.

Das β -TG-Proteinmolekül besteht aus vier identischen Untereinheiten, von welchen jede Untereinheit 81 Aminosäuren enthält und welche jeweils ein Molekulargewicht von 8851 D besitzen [6]. Das Molekulargewicht des gesamten Moleküls liegt bei 35800 D [6],[108]. Lokalisiert ist β -TG in den α -Granula der Thrombozyten [53],[87]. Untersuchungen über die Verteilung in Körperflüssigkeiten [34] und in verschiedenen

Gewebe [98] sprechen dafür, dass β -TG ausschließlich in den Thrombozyten lokalisiert ist.

Biologisch hat das β -TG mehrere Funktionen. Zum einen besitzt es eine schwach ausgeprägte Heparin-neutralisierende Wirkung, zum anderen besitzt β -TG vermutlich eine Prostacyclin-hemmende Wirkung. Aus der Gefäßwand freigesetzte Prostacycline haben einen hemmenden Effekt auf die Plättchenaggregation, welcher durch β -TG abgeschwächt wird. β -TG wird zusammen mit PF4 bei Thrombin-induzierten Aggregationsreaktionen freigesetzt. Durch die Bestimmung des freigesetzten β -TG können somit auf den Thrombozytenzerfall bzw. auf Aggregationsvorgänge im Zirkulationssystem geschlossen werden. Die normale Plasmakonzentration von β -TG bei gesunden Versuchspersonen liegt zwischen 19 ng/ml und 53 ng/ml [14],[33],[98],[99],[188]. Über eine Erhöhung der β -TG-Konzentration mit steigendem Lebensalter wird berichtet [99],[188]. Die Ursache hierfür könnte in den fortschreitenden arteriosklerotischen Veränderungen liegen.

1.3.7 PMN-Elastase

1968 gelang es Janoff und Ohlsen, die PMN-Elastase aus polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten zu isolieren. Es handelt sich dabei um ein Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 30000 Dalton. In den polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten wird die PMN-Elastase in den azurophilen Granula gespeichert und übernimmt eine wichtige Rolle beim Abbau phagozytierten Materials.

Gelangt die PMN-Elastase ins Interstitium, kann sie dort Elastin, Proteoglykane, Kollagen, Fibronectin, Laminin und Basalproteine abbauen und führt somit zu einer erheblichen Destruktion des Gewebes.

Intravasal löst die PMN-Elastase folgende Vorgänge aus:

- Spaltung von Kininogen in Kinin [86],[138]
- Spaltung von Fibrinogen in Fibrin
- Aktivierung des alternativen Komplementweges durch Spaltung von C_3 und C_5 [40]
- Inhibition des Gerinnungssystems durch Proteolyse von Antithrombin III [110] sowie der Faktoren II, V, VII, VIII, XII, XIII [42],[82],[116],[121],[140],

-Proteolyse von α_2 -Antiplasmin und C₁-Inhibitor

-direkte Spaltung von Kininogen in aktives Kinin, welches lokal eine Zunahme der Vasodilatation und der Vasopermeabilität bewirkt [90].

Eine Freisetzung der PMN-Elastase ist durch verschiedene Stimuli möglich. Darunter fallen Phagozytose, Kontakt mit Immunkomplexen, aktivierten Faktoren des Komplementsystems oder Faktoren der Kontaktphasenaktivierung wie Plasma-Kallikrein oder Faktor XII [70],[126],[127],[189].

Zu den Inhibitoren der PMN-Elastase zählen zu 92% α_1 -Antitrypsin und zu 8% α_2 -Makroglobulin. α_1 -Antitrypsin bindet die PMN-Elastase unter physiologischen Bedingungen innerhalb von Millisekunden in einem irreversiblen Komplex [157]. Die Konzentrationsbestimmung im Immunoassay erfolgt über diesen Komplex.

Der Normbereich für PMN-Elastase liegt zwischen 30 und 160 $\mu\text{g/l}$ [114].

Erhöhte PMN-Elastase-Werte finden sich bei akut entzündlichen Erkrankungen wie Infektionen, Traumen oder auch pankreatogenem Schock [116],[155].

Kommt Blut bei extrakorporaler Zirkulation in Kontakt mit unphysiologischen Oberflächen kann ein Anstieg der Plasmawerte beobachtet werden [70],[72],[73].

1.4 Heparinbeschichtete Oxygenatoren

1.4.1 Wirkungsweise der Heparinbeschichtung

Seit 1963, als erstmals positive Eigenschaften in Bezug auf die Thrombogenität von heparinisierten Oberflächen beschrieben wurden [62], erfolgte die Erforschung vieler verschiedener Beschichtungsmethoden für Oxygenatoren. Die Beschichtungsverfahren unterscheiden sich dabei in der Art der Heparinbindung und der Trägermoleküle.

Anfänglich wurde von vielen Autoren davon ausgegangen, dass die reduzierte Thrombogenität der heparinbeschichteten Oberflächen über die katalytische Wirkung auf AT III und dadurch verstärkter Thrombinkomplexierung ausgelöst wird. Dies kann nach neuesten Erkenntnissen [180] nicht mehr aufrecht erhalten werden. Die Vorteile der Heparinbeschichtung bestehen vielmehr in der geringeren und selektiven Adhäsion von Plasmaproteinen, welche einerseits zu einer schnellen Bildung einer

blutfreundlichen Sekundärmembran auf der Oberfläche führen und andererseits eine weitere Denaturierung und somit Aktivierung der adhären Proteine verhindert.

Von mehreren Arbeitsgruppen wurde bewiesen, dass die Adhäsion von Plasmaproteinen wie Faktor XII, Fibrinogen HMWK usw. an Oberflächen ein wesentliches Kriterium für die Thrombogenität derselben darstellt [2],[19],[20],[32],[139],[173],[174],[175],[176].

Sobald Blut in Kontakt mit negativ geladenen Oberflächen kommt, zerfällt Faktor XII, welcher im Komplex mit Präkallikrein und HMWK inaktiv vorliegt, in seine Fragmente. Der genaue kaskadenartige Vorgang der Aktivierung sowie der weitere Ablauf der Gerinnung wurde in den vorherigen Kapiteln bereits beschrieben. Da oberflächen-vergütete Materialien in der Lage sind die Kontaktphasenaktivierung zu minimieren, werden auch die dadurch ausgelösten weiteren Reaktionen reduziert, zu denen neben der Gerinnungsreaktion auch die Aktivierung des Komplementsystems (C_i), entweder über Plasmin oder über die Spaltprodukte von Faktor XII, sowie die Stimulation der neutrophilen Granulozyten zu chemotaktischer Aktivität, zählen. Dadurch sind die geringere Komplementaktivierung und die damit reduzierbaren inflammatorischen Postbypass-Syndrome beim Einsatz extrakorporaler Zirkulations-Systeme zu erklären [83],[107],[151].

Letztlich sind aber die exakten Wirkungsmechanismen, die sich bei Kontakt von Blut mit heparinbeschichteten Oberflächen abspielen, noch nicht endgültig geklärt. In zahlreichen Studien konnte gezeigt werden, dass eine Heparinbeschichtung zu einer Reduktion folgender Reaktionen und Symptome führt [181]:

- Kontaktphasenaktivierung [152],[182]
- Komplementsystem [45],[83],[107],[151]
- Granulozytenschädigung [75],[100],[119]
- Inflammation [12],[147],[187]
- pulmonale Komplikationen [130],[132]
- Thrombozytenaktivierung [167],[168]
- Hämostasestörungen [11]
- Blutverlust [11],[83]

Ob durch die Verwendung heparinbeschichteter Systeme auch eine Reduzierung der systemischen Heparindosis möglich ist, ist derzeit allerdings noch nicht ganz klar [94],[169].

1.4.2. Beschichtungsarten

Es gibt zur Zeit mehrere verschiedene Heparinbeschichtungen, die sich durch die Art der Heparinbindung sowie der Trägermoleküle unterscheiden. Manche davon befinden sich bereits in langjährigem klinischen Einsatz, andere noch im Versuchsstadium. An dieser Stelle soll jedoch nur die Beschichtungstechnik der verwendeten Oxygenatoren der Fa. Medtronic Inc., Anaheim, CA, USA näher erläutert werden.

1.4.2.1 Carmeda® bioactive surface (= CBAS)

Die Carmeda® bioaktive Oberfläche wird nach dem bereits 1983 von Larm et al. [96] entwickelten Verfahren der Endpunktbefestigung hergestellt. Dabei wird durch spezielle kovalente Koppelungsmechanismen erreicht, dass ein Großteil der aktiven Heparinsequenzen frei im Blutstrom wirksam ist. Die Beschichtung setzt sich aus sechs Schichten zusammen: Auf das Basismaterial kommt eine abwechselnd kationische/anionische Grundbeschichtung aus Polyethylenimin/Crotonaldehyd und Dextransulfat. Das Heparin ist kovalent an die adsorbierte Grundbeschichtung gebunden. Die Schichtdicke beträgt 300 nm und enthält etwa $2 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ Heparin. Die Hauptfunktion dieser Oberfläche ist eher in der Passivierung adsorbierter Proteine zu sehen, was zu einer wesentlich weniger thrombogenen Oberfläche führt und weniger in der Thrombin-Inaktivierung in der Hauptblutmenge [21]. Durch diese Art der Bindung können also zwei Effekte erzielt werden: zum einen erhält man eine weniger thrombogene Oberfläche und zum anderen wird die Denaturierung der adhärennten Plasmaproteine reduziert [43].

Heparinbeschichtete Systeme bieten eine Reihe von Vorteilen. Als hervorhebenswert sind dabei die geringere zelluläre und humorale Aktivierung [91],[106],[143],[178],[182] sowie die reduzierte Komplementaktivierung [45],[106],[166] zu nennen. In einer Untersuchung von Bozdayi et al. konnte gezeigt werden, dass mit der CBAS®-Beschichtung eine reduzierte Produktion von freien Sauerstoffradikalen erreicht wird [18]. Von Hogevoold konnte gezeigt werden, daß die Neutrophilenaktivierung bei CBAS® vermindert ist [75]. Insgesamt kann mit dem

Einsatz der CBAS®-Beschichtung eine Reduzierung der inflammatorischen Postperfusionssyndrome erzielt werden [181].

1.4.2.2 ZX/ ZX+H - Beschichtung

Bei der ZX/ ZX+H-Beschichtung handelt es sich um eine neue, silikonartige Beschichtung, welche sich noch im Versuchsstadium befindet und zu welcher die Firma Medtronic zum Zeitpunkt der Erstellung dieser Dissertation aus betriebsinternen Gründen keine näheren Angaben machen möchte. Bei der Version ZX+H steht das H für Heparin und kennzeichnet diesen Typ hierdurch als zusätzlich heparinbeschichtet. Auch über die Art der Heparinbindung liegen keine weiteren Informationen vor.

2. Material und Methoden

2.1. Versuchsaufbau/Material

2.1.1 Herz-Lungen-Maschinen-Modell

Das ex-vivo Testmodell der Herz-Lungen-Maschine, mit welchem der Einfluß der unphysiologischen Oberflächen auf den Ablauf der Kontaktphasenaktivierung, der Gerinnungskaskade, des Kallikrein-Kinin-Systems und der Fibrinolyse untersucht wurde, wurde von Heller et al. 1991 entwickelt, um die Situation der extrakorporalen Zirkulation realitätsnah simulieren zu können [69].

Es besteht aus folgenden Komponenten:

-Rollenpumpe Nr. 2327 der Firma SARNS Inc., Ann Arbor, Michigan, USA.

Blutfluß 1,5 l/min

arterieller Druck 60 mmHg

-Hypothermiegerät mit Wasserreservoir, Typ Q 102, Fa. Haake, Berlin, Deutschland

-Membranoxygenatoren, alle von der Fa. Medtronic Inc., Anaheim, CA, USA:

Maxima Plus PRF;

Maxima Plus PRF mit Carmeda bioactive surface

Maxima Plus PRF ZX;

Maxima Plus PRF ZX+H;

-Begasungsvorrichtung mit Dosierungsarmaturen und -anzeigen zur O₂ und CO₂ Zufuhr

Gasfluß: O₂: 1 l/min; CO₂: 0,03 l/min

-Verbindungsschläuche aus Polyvinylchlorid Ø ³/₈ ", mit 10 cm, 130 cm und

40 cm Länge

-Dreiweghahn zur Blutentnahme

-Verbindungsstück 1 x ³/₈ " x ³/₈ "

-Verbindungsstücke 2 x ¹/₂ " x ³/₈ "

-Manometer

-Blutreservoir mit Filter

allgemeine Beschreibung des Modells:

Von einem Blutreservoir wird das Blut über ein Schlauchsystem, in welches eine Rollenpumpe und ein Dreiwegehahn zur Blutentnahme zwischengeschaltet sind, dem Oxygenator zugeführt, von welchem es wieder zurück zum Reservoir geleitet wird.

An den Oxygenator ist über zwei Anschlüsse das Hypothermiegerät angeschlossen, welches die Temperatur des Blutes konstant auf 28°C halten soll, um so den Sauerstoffbedarf zu senken und Operationsbedingungen zu simulieren.

Desweiteren verfügt der Oxygenator über einen Anschluß, an welchen die Begasungsvorrichtung angeschlossen ist und durch welche das Blut konstant mit einem Gasgemisch aus Sauerstoff (1 l/min) und Kohlendioxid (0,03 l/min) versorgt wird. Hierdurch werden im Blut Partialdrücke von 150-200 mmHg für Sauerstoff und 35-45 mmHg für Kohlendioxid erreicht.

2.1.2 Beschreibung der Oxygenatoren

Es wurden drei Versuchsreihen durchgeführt. Untersucht wurden dabei baugleiche Membranoxygenatoren Maxima Plus (MAX-PRF, plasma resistant fiber) der Fa. Medtronic Inc., Anaheim, CA, USA aus Polypropylen-Hohlfasern, welche sich nur in der Art der Beschichtung unterscheiden. Die Gesamtoberfläche der Hohlfasern beträgt 2,3 m² und das Füllungsvolumen 480 ml. Der mögliche Blutfluß ist zwischen 1 und 7 l/min einstellbar.

In einer ersten Versuchsreihe wurden unbeschichtete MAX-PRF mit CBAS-beschichteten Oxygenatoren, CBMAX-PRF, verglichen. Verwendet wurde hierbei Citratblut.

In einer zweiten Versuchsreihe fand ein Vergleich des unbeschichteten MAX-PRF mit den unbeschichteten Oxygenatortypen MAX-PRF ZX sowie den beschichteten MAX-PRF ZX+H statt. Verwendet wurde Citratblut.

In der dritten Versuchsreihe wurden die drei Oxygenatortypen der zweiten Versuchsreihe erneut verglichen. Verwendet wurde diesmal jedoch Heparinblut, um

eventuelle Einflüsse des Citrats auf die Höhe der zu bestimmenden Parameter ausfindig machen zu können.

2.2 Parameter

Um Aussagen über die Effekte der extrakorporalen Zirkulation auf Kontaktphasenaktivierung, extrinsisches und intrinsisches Gerinnungssystem sowie auf Thrombozyten- und Granulozytenzahl machen zu können, wurden stellvertretend die Konzentrationsverläufe folgender Parameter während einer 90-minütigen Rezirkulation untersucht:

-Kallikrein-like activity und Faktor XII-like activity

Beide Parameter zeigen eine Aktivierung der Kontaktphase durch Kontakt mit unphysiologischen Oberflächen sowie mechanischer Traumatisierung während der Rezirkulation an.

Ein Anstieg der Kallikrein-like-activity spiegelt eine Generierung von Kallikrein aus Präkallikrein wieder und erlaubt somit Aussagen über die Kontaktphasenaktivierung.

Die Aktivierung des Faktor XII ist der erste Schritt bei der Aktivierung des intrinsischen Gerinnungssystems. Faktor XII stellt damit das zentrale Enzym der Kontaktphasenaktivierung dar. Zur Beurteilung der Aktivierung von Faktor XII wird die FXII-like-activity bestimmt.

- Thrombozytenzahl und β -Thromboglobulin

β -Thromboglobulin diente in den durchgeführten Rezirkulationen zusammen mit der Thrombozytenzahl als Marker für das Ausmaß der Thrombozytenschädigung bzw. -aggregation.

β -Thromboglobulin ist in den α -Granula der Thrombozyten lokalisiert und wird bei Thrombozytenzerfall bzw. -aggregation aus diesen freigesetzt.

Durch die Bestimmung des freigesetzten β -TG kann somit auf den Thrombozytenzerfall bzw. auf Aggregationsvorgänge im Zirkulationssystem geschlossen werden.

-PMN-Elastase

Die PMN-Elastase ist in den azurophilen Granula der polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten gespeichert. Sie dient als Marker für das Ausmaß der Granulozytenaktivierung bzw. -schädigung. Kommt Blut bei extrakorporaler Zirkulation in Kontakt mit unphysiologischen Oberflächen, kann ein Anstieg der Plasmawerte beobachtet werden.

-Heparinkonzentration

Es wurden jeweils die Heparinkonzentrationen bei den einzelnen Abnahmen bestimmt, um somit Aussagen über die Stabilität der Heparinbeschichtung machen zu können.

2.3. Probenmaterial

2.3.1 Blutkonserven

Die für diese Versuchsreihe benutzten Blutkonserven enthalten ca. 500 ml stabilisiertes, auf HIV und Hepatitis B getestetes Vollblut mit einem pH-Wert von 7,4-7,5.

Als Stabilisator wurden 70 ml CPDA-1 zugesetzt.

Ziel der Stabilisatorzugabe ist es, die physikalischen, morphologischen und biologischen Eigenschaften des Blutes zu erhalten.

Gelagert wurde das Blut in einem vibrationsfreien Kühlschrank bei 4 °C.

Um eine gleichmäßige Durchmischung der Blutbestandteile zu gewährleisten, wurde die Blutkonserve zu Versuchsbeginn für 30 min vorsichtig bei Raumtemperatur durchmischt.

2.3.1.1 Priming Solution

Vor Versuchsbeginn wurde der Herz-Lungen-Maschinen-Kreislauf für 30 Minuten mit 1000 ml Ringer-Laktat-Lösung bei einem Durchfluß von 2 l/min gespült. Nach dieser Zeit wurden 900 ml dieser Lösung abgelassen und -sofern ein heparinisierter

Oxygenator getestet wurde - die Heparinkonzentration dieser Lösung bestimmt, um hierdurch Aussagen über die Qualität der Oberflächenbeschichtung machen zu können. Anschließend wird die Lösung verworfen.

Anschließend wurden 300 ml Priming Solution in das Reservoir gegeben, bestehend aus:

78,3 ml 5%ige Glukose-Lösung, um den Energiestoffwechsel der Erythrozyten zu gewährleisten;

182 ml Ringer-Laktat-Lösung um eine physiologische Serumelektrolytkonzentration zu erhalten;

24 ml 10%ige Calciumchlorid-Lösung zur Rekalzifizierung des Blutes, um wieder voll gerinnungsfähiges Blut zu erhalten;

15,7 ml 8,4%ige NaHCO₃-Lösung als Puffer zur Neutralisierung der durch die Rekalzifizierung frei werdenden Zitronensäure.

2.3.1.2 variable Blutzusätze

Zur Gerinnungshemmung wurde Liquemin verwendet. Ziel ist es, eine Heparinkonzentration von 3 U/ml Maschinenfüllvolumen zu erreichen. Um dies zu gewährleisten, wurde die Liqueminmenge für jede Konserve individuell berechnet.

2.3.2 Abnahmemodus

Es wurde folgendes Schema gewählt:

Abnahme 1: direkt aus der Konserve	= Abnahmezeitpunkt 1 (AZP 1)
Abnahme 2: nach 1 min Rezirkulation	= AZP 2
Abnahme 3: nach 5 min Rezirkulation	= AZP 3
Abnahme 4: nach 10 min Rezirkulation	= AZP 4
Abnahme 5: nach 20 min Rezirkulation	= AZP 5
Abnahme 6: nach 30 min Rezirkulation	= AZP 6
Abnahme 7: nach 60 min Rezirkulation	= AZP 7
Abnahme 8: nach 90 min Rezirkulation	= AZP 8

2.3.3 Blutentnahmen

Pro Abnahmezeitpunkt wurden entnommen:

- 10 ml Citratmonovette (enthält 1 ml Citratlösung; 0,106 mol/l $C_6H_5Na_3O_7 \times 2H_2O$)
- 2,7 ml EDTA -Monovette (Kalium-EDTA 1,6 mg/ml)
- 4,5 ml Neutralmonovette (enthält 450 μ l CTAD-Medium)
- 4,5 ml Neutralmonovette (enthält 450 μ l Spezial Medium für FPA-Bestimmung,
bestehend aus Natriumcitrat, Heparin und Aprotinin)

zusätzlich wurden für die Blutentnahmen 2-8 entnommen :

- 3 ml Citratmonovette zur Heparinbestimmung
(enthält 0,3 ml Citratlösung; 0,106 mol/l $C_6H_5Na_3O_7 \times 2H_2O$)

2.3.4 Probenverarbeitung

Bei der Abnahme wurde darauf geachtet, dass die Monovetten immer in der gleichen Reihenfolge entnommen werden.

Bis zur Zentrifugation wurden die 10 ml Citratmonovetten und die Monovetten zur FPA-Bestimmung bei Zimmertemperatur verwahrt; die 3 ml Citratmonovetten, die EDTA-Monovetten sowie die CTAD-Monovetten wurden nach jeder Entnahme in Eis gekühlt.

Vor Kühlung der EDTA-Monovetten wurde mit Hilfe eines Zellcounters das Blutbild bestimmt.

Nach der Zentrifugation wurden die Proben in flüssigem Stickstoff schockgefroren und bei $-20^\circ C$ (FPA bei $-70^\circ C$) für die weiteren laborchemischen Analysen aufbewahrt.

Zentrifugiert wurden die Monovetten nach folgendem Schema:

-10 ml Citratmonovetten:

Zentrifugation für 20 min bei 2000 g und 20°C

Die Abnahme 1 wurde nach der Zentrifugation sofort eingefroren.

Von den Abnahmen 2-8 wurden jeweils die Heparinkonzentrationen bestimmt und zur Neutralisation die entsprechende Protaminsulfatmenge zugegeben und gut durchmischt bevor die Proben eingefroren wurden.

Die Methode der Heparinbestimmung wird zu einem späteren Zeitpunkt beschrieben.

-4,5ml FPA-Monovetten:

Zentrifugation für 10 min bei 2000 g und 20°C

Zu 1ml des Plasmaüberstandes wurden 500 µl Bentonitlösung zugegeben, mit Parafilm verschlossen, für 10 min konstant geschüttelt und anschließend zentrifugiert.

1 ml des Überschusses wurde erneut abpipettiert und noch einmal mit derselben Menge Bentonitlösung versehen, geschüttelt und zentrifugiert.

Der Überstand wurde eingefroren.

-2,7 ml EDTA-Monovetten:

Zentrifugation für 20 min bei 2000 g und 4°C

-4,5 ml PF4-Monovetten

Zentrifugation für 30 min bei 2000 g und 4°C

-3 ml Citratmonovetten

Zentrifugation für 20 min bei 2000 g und 4°C

Das Plasma wurde nicht eingefroren sondern diente der Heparinbestimmung.

2.4 Laborchemische Bestimmungen und Methoden

2.4.1 Heparin

Die Bestimmung der Heparinkonzentration wurde nach den Laborvorschriften „Coatest Heparin“ der Firma Chromogenix, Mölndal, Schweden durchgeführt. Das genaue Vorgehen bei der Bestimmung kann diesen entnommen werden.

Testprinzip:

1. Heparin + AT III (Überschuß) \Rightarrow [Heparin-AT III]
2. [Heparin-AT III] + FXa (Überschuß) \Rightarrow [Heparin-AT III-FXa] + FXa (Rest)
3. S-2222 \Rightarrow Peptid + pNA (para-Nitroanilin)

Heparin bildet mit AT III einen Komplex. Hierfür wird in einem ersten Schritt gereinigtes AT III im Überschuß zugegeben. In einem zweiten Schritt wird Faktor Xa im Überschuß zugegeben. Dieser wird proportional zum vorhandenen Heparin neutralisiert. Der restliche FXa hydrolysiert in einem dritten Schritt das chromogene Substrat S-2222. Es entsteht ein Peptid und para-Nitroanilin, welches photometrisch bei 405 nm Wellenlänge gemessen wird. Die Farbentwicklung ist umgekehrt proportional zum vorhandenen Heparin Gehalt.

Mit Hilfe einer zuvor aufgestellten Eichkurve aus bekannten Heparinkonzentrationen ist die Heparinkonzentration der Probe ermittelbar.

2.4.2 Kallikrein-like-activity

Es wurde mit dem Testkit und der Laborvorschrift der Firma Unicorn Diagnostics Ltd., London, Großbritannien gearbeitet. Das genaue Vorgehen bei der Bestimmung kann diesen entnommen werden.

Testprinzip :

1. MBz-Pro-Phe-Arg-pNA + KK-like-activity \Rightarrow Peptid + pNA

Plasma-Kallikrein-like-activity katalysiert die Abspaltung von p-Nitroanilin aus dem chromogenen Substrat. P-Nitroanilin kann photometrisch bei 405 nm Wellenlänge gemessen werden. Es ist nun möglich, daraus die Kallikrein-like-aktivität zu berechnen, da diese der des Kallikrein- α_2 -Makroglobulin-Komplexes entspricht.

2.4.3 Faktor XII-like activity

Die Bestimmung der Faktor XII-like activity erfolgte nach den Laborvorschriften der Firma Unicorn Diagnostics Ltd., London, Großbritannien. Das genaue Vorgehen bei der Bestimmung kann diesen entnommen werden.

Testprinzip:

1. FXLL-1-a + Plasma \Rightarrow Kallikrein
2. Kallikrein + Kallikrein-Inhibitor \Rightarrow FXII-1-a/KK-Komplex
3. FXII-1-a/KK-Komplex + chromogenes Substrat \Rightarrow Peptid + pNA

Die FXII-like-activity stellt die Konzentration von an α_2 -Makroglobulin gebundenem α -F XIIa dar.

Die FXII-like-activity kann mit Hilfe eines chromogenen Substrats bestimmt werden, von welchem durch das Vorhandensein von α -F XIIa, welches an α_2 -Makroglobulin gebunden ist, pNA abgespalten wird. Die Konzentration des pNA kann photometrisch bei 405 nm Wellenlänge bestimmt werden und verhält sich proportional zur FXII-like-activity.

2.4.4 Thrombozyten

Die Bestimmung der Thrombozytenzahl erfolgte unmittelbar nach der Abnahme direkt aus der Monovette mit Hilfe des Zellcounters.

2.4.5 β -Thromboglobulin

Die Bestimmung der β -Thromboglobulinkonzentration wurde nach den Laborvorschriften der Firma Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, Deutschland durchgeführt. Es handelt sich dabei um einen Sandwich-Immunoassay zur quantitativen Bestimmung von β -Thromboglobulin. Das genaue Vorgehen bei der Bestimmung kann diesen entnommen werden.

Testprinzip:

In einer ersten Immunreaktion bindet der auf den Mikrotitrationsstreifen fixierte spezifische Antikörper gegen β -Thromboglobulin das β -TG der Probe. β -TG besitzt mehrere antigene Determinanten. Daher werden in einer zweiten Immunreaktion mit POD-markierten β -TG-Antikörpern Sandwich-Komplexe gebildet. Die Menge der Sandwich-Komplexe stellt ein Maß für den β -TG-Gehalt der Probe dar. In einem anschließenden Waschschrift wird das nicht gebundene POD-Konjugat schließlich entfernt. Nach Zusatz von Harnstoffperoxid und Chromogen wird die gebundene POD-Aktivität photometrisch bei 492 nm bestimmt.

2.4.6 PMN-Elastase:

Es handelte sich bei diesem Testkit um einen heterogenen Enzymimmunoassay zur spezifischen Bestimmung der PMN-Elastase aus polymorphnucleären Leukozyten im Komplex mit PMN-Elastase- α_1 Proteinaseinhibitor der Firma Merck, Darmstadt, Deutschland. Das genaue Vorgehen bei der Bestimmung kann diesen entnommen werden.

Testprinzip:

In einem ersten Inkubationsschritt wird der in der Probe enthaltene PMN-Elastase- α_1 -Proteinaseinhibitor-Komplex mit seinem PMN-Elastase-Teil durch an die Röhrenwand gekoppelte Antikörper gebunden.

Bei einer zweiten Inkubation werden Antikörper, die mit alkalischer Phosphatase markiert sind, zugesetzt. Diese reagieren mit dem α_1 -Proteinaseinhibitor-Teil des

Komplexes. Die überschüssigen markierten Antikörper werden ausgewaschen und die enzymatische Aktivität der über Immunkomplexe gebundenen alkalischen Phosphatase wird photometrisch bei 405 nm Wellenlänge bestimmt.

Die Menge des gebildeten Farbstoffs ist der PMN-Elastase- α_1 -Proteinaseinhibitor-Konzentration direkt proportional.

2.5 Statistik

Die Ergebnisse wurden als Mittelwert \pm Standardfehler angegeben. Zeit- und gruppenabhängige Unterschiede wurden mit der Statistiksoftware SPSS analysiert und mit der multivarianten Varianzanalyse ausgewertet. P-Werte $< 0,05$ wurden als signifikant betrachtet. Die Graphiken wurden mit Microsoft Excel erstellt.

3. Ergebnisse:

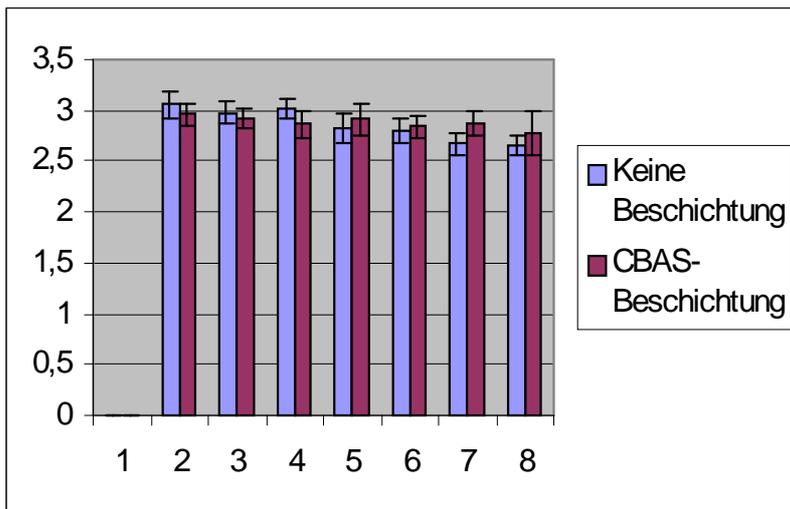
3.1. Versuchsreihe 1:

3.1.1 Heparinkonzentration

Vergleich der Mittelwerte der Heparinkonzentrationen von 9 Rezirkulationen mit MAX-PRF und 9 Rezirkulationen CBMAX-PRF.

in IU/l:

Zirkulationszeit	MAX-PRF		MAX-PRF- ZX		p
	Mittelwert	Standardfehler	Mittelwert	Standardfehler	
0 Minuten					
1 Minute	3,06	0,13	2,97	0,11	0,593
5 Minuten	2,98	0,10	2,93	0,10	0,714
10 Minuten	3,02	0,09	2,87	0,13	0,332
20 Minuten	2,82	0,14	2,91	0,15	0,664
30 Minuten	2,80	0,11	2,84	0,10	0,807
60 Minuten	2,68	0,11	2,86	0,12	0,265
90 Minuten	2,66	0,09	2,78	0,21	0,588



Die Heparinzugabe erfolgt erst nach dem ersten Abnahmezeitpunkt, so dass für den ersten Abnahmezeitpunkt keine Heparinbestimmung erfolgt.

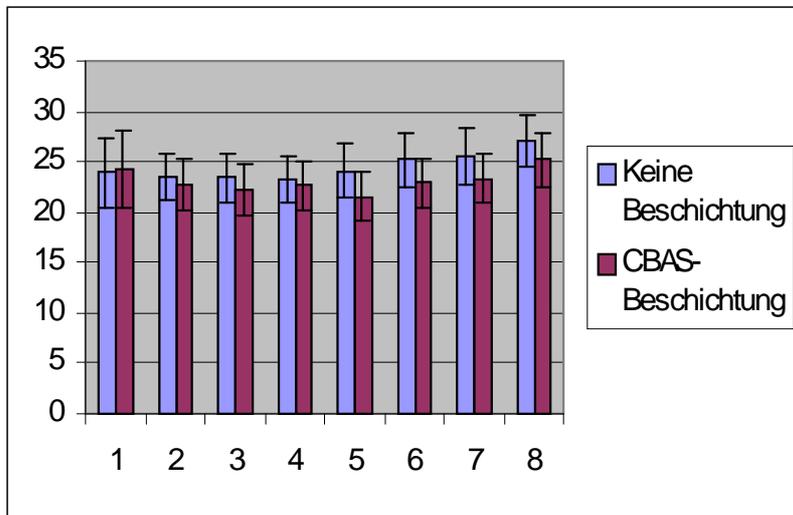
Die Werte nach einer Rezirkulationszeit von einer Minute liegen mit $3,06 \pm 0,13$ IU/ml in der Kontrollgruppe, bzw. $2,96 \pm 0,11$ IU/ml in der beschichteten CBMAX-Gruppe im angestrebten Bereich. Nach 90 Minuten findet sich in der Kontrollgruppe eine Konzentration von $2,66 \pm 0,09$ IU/ml und in der CBMAX-Gruppe ein Wert von $2,78 \pm 0,21$ IU/ml. Es finden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen ($p > 0,05$).

3.1.2 Kallikrein-like activity

Vergleich der Mittelwerte der Kallikrein-like activity von 9 Rezirkulationen mit MAX-PRF und 9 Rezirkulationen CBMAX-PRF.

in U/l:

Zirkulationszeit	MAX-PRF		MAX-PRF- ZX		p
	Mittelwert	Standardfehler	Mittelwert	Standardfehler	
0 Minuten	23,93	3,39	24,27	3,82	0,948
1 Minute	23,54	2,27	22,78	2,50	0,824
5 Minuten	23,41	2,43	22,20	2,46	0,731
10 Minuten	23,25	2,27	22,62	2,38	0,849
20 Minuten	24,05	2,66	21,55	2,40	0,495
30 Minuten	25,18	2,74	22,94	2,43	0,550
60 Minuten	25,57	2,76	23,34	2,42	0,553
90 Minuten	27,00	2,56	25,26	2,67	0,646



Zu Beginn der Rezirkulation liegen die Werte für die Kallikrein-like-activity mit $23,93 \pm 3,39$ U/l in der unbeschichteten MAX-PRF-Gruppe und $24,27 \pm 3,82$ U/l in der beschichteten CBMAX-PRF-Gruppe auf nahezu gleichem Ausgangsniveau ($p=0,948$). Der Endwert nach 90-minütiger Zirkulation liegt in der MAX-PRF-Gruppe bei $27,00 \pm 2,56$ U/l, in der Vergleichsgruppe bei $25,56 \pm 2,67$ U/l.

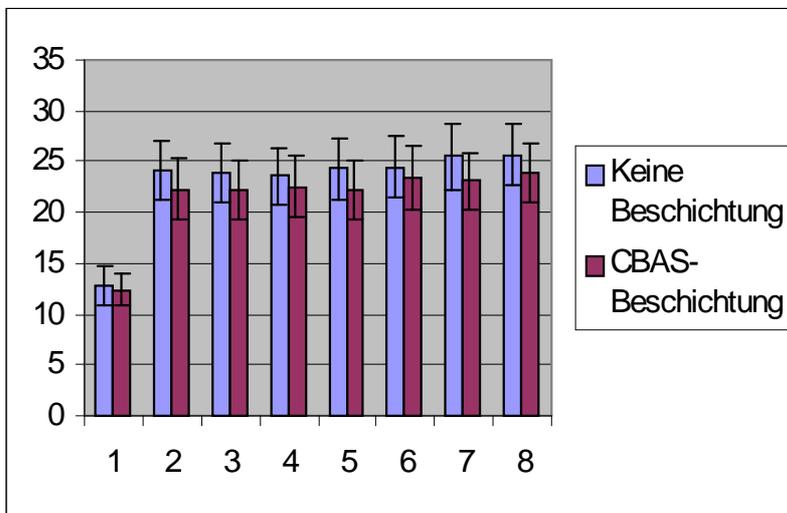
Beim Vergleich der beiden Testgruppen können keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden ($p>0,05$).

3.1.3 Faktor XII-like activity

Vergleich der Mittelwerte der Faktor XII-like activity von 9 Rezirkulationen mit MAX-PRF und 9 Rezirkulationen CBMAX-PRF.

in U/l:

Zirkulationszeit	MAX-PRF		MAX-PRF- ZX		p
	Mittelwert	Standardfehler	Mittelwert	Standardfehler	
0 Minuten	12,88	1,90	12,40	1,49	0,843
1 Minute	24,14	3,01	22,30	3,05	0,672
5 Minuten	23,96	2,91	22,22	2,86	0,676
10 Minuten	23,59	2,82	22,50	2,97	0,794
20 Minuten	24,27	3,02	22,23	2,86	0,632
30 Minuten	24,45	3,02	23,38	3,13	0,809
60 Minuten	25,47	3,23	23,14	2,80	0,594
90 Minuten	25,69	3,05	23,89	2,94	0,677



Die Ausgangswerte der beiden Versuchsgruppen liegen vor Beginn der Rezirkulation mit $12,88 \pm 1,90$ U/l in der unbeschichteten MAX-PRF-Gruppe bzw. $12,39 \pm 1,49$ U/l in der CBMAX-Vergleichsgruppe auf gleichem Ausgangsniveau ($p=0,843$).

In der unbeschichteten MAX-PRF-Gruppe steigt die Konzentration für die F XII-like-activity ausgehend von $12,88 \pm 1,90$ U/l auf $24,14 \pm 3,01$ U/l nach einer Rezirkulationsdauer von einer Minute an. Im weiteren Verlauf findet sich nur noch ein geringgradiger Anstieg, mit einem Maximum von $25,69 \pm 3,05$ U/l nach 90 minütiger Zirkulation.

In der CBMAX-Vergleichsgruppe zeigt sich ein ähnlicher Verlauf. Ausgehend von $12,39 \pm 1,49$ U/l bei Rezirkulationsbeginn, läßt sich nach einer Rezirkulationsdauer von einer Minute ein Wert von $22,29 \pm 3,05$ U/l feststellen, welcher dann bis zum Rezirkulationsende nach 90 Minuten nur noch leicht auf $23,89 \pm 2,94$ U/l ansteigt.

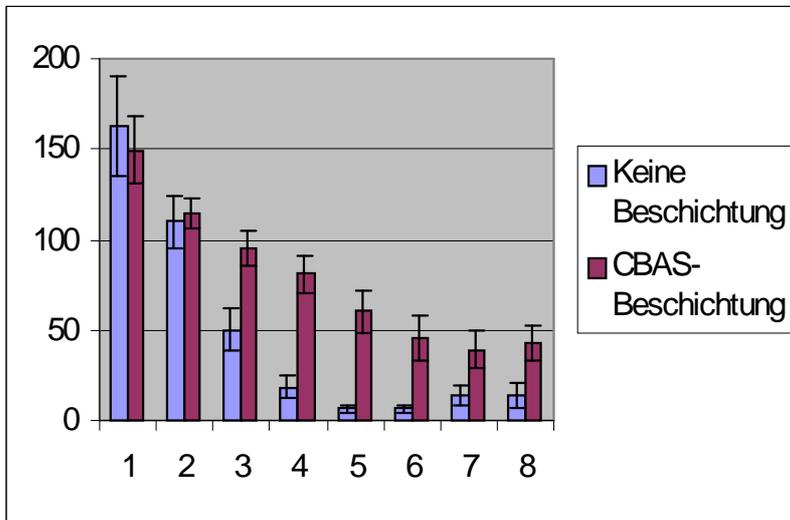
Es finden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen ($p>0,05$).

3.1.4 Thrombozyten

Vergleich der Mittelwerte der Thrombozyten von 8 Rezirkulationen mit MAX-PRF und 9 Rezirkulationen CBMAX-PRF.

x 10³ Zellen/ μ l:

Zirkulationszeit	MAX-PRF		MAX-PRF- ZX		p
	Mittelwert	Standardfehler	Mittelwert	Standardfehler	
0 Minuten	162,67	27,25	149,56	19,10	0,699
1 Minute	109,70	14,74	113,93	8,25	0,806
5 Minuten	50,09	11,49	95,51	9,91	0,009
10 Minuten	18,46	5,71	80,82	10,33	0,000
20 Minuten	6,37	2,21	60,10	12,26	0,002
30 Minuten	6,39	2,13	45,15	12,67	0,008
60 Minuten	14,06	5,39	38,69	10,40	0,052
90 Minuten	13,89	6,47	42,48	9,31	0,023



Die Ausgangswerte der beiden Versuchsgruppen liegen vor Beginn der Rezirkulation mit $162,67 \pm 27,25 \times 10^3$ Zellen/ μl in der MAX-PRF-Gruppe bzw. $149,56 \pm 19,10 \times 10^3$ Zellen/ μl in der CBMAX-Vergleichsgruppe auf vergleichbarem Ausgangsniveau ($p=0,699$).

Während der Rezirkulation läßt sich in der MAX-PRF-Kontrollgruppe ein biphasischer Verlauf beobachten. Bis zu einer Rezirkulationsdauer von 20 Minuten zeigt sich ein dramatischer Abfall der Thrombozytenzahl von $162,67 \pm 27,25 \times 10^3$ Zellen/ μl bis auf $6,37 \pm 2,21 \times 10^3$ Zellen/ μl . Einen fast identischen Wert findet man nach einer Rezirkulationsdauer von 30 Minuten. Dies entspricht einem Rückgang von 96,1%. Nach 90- minütiger Rezirkulation läßt sich ein leichter Anstieg der Thrombozytenzahl auf $13,89 \pm 6,48 \times 10^3$ Zellen/ μl feststellen, was in etwa einer Verdoppelung des niedrigsten Wertes bzw. einem Rückgang von 91,5% bezogen auf den Ausgangswert entspricht.

Während der Rezirkulation lässt sich in der CBMAX-Vergleichsgruppe ein kontinuierlicher Rückgang der Thrombozytenzahl ausgehend von $149,56 \pm 19,10 \times 10^3$ Zellen/ μl bis auf $42,48 \pm 9,31 \times 10^3$ Zellen/ μl nach 90-minütiger Rezirkulation beobachten, was einem Rückgang der Thrombozytenzahl um 71,6% entspricht.

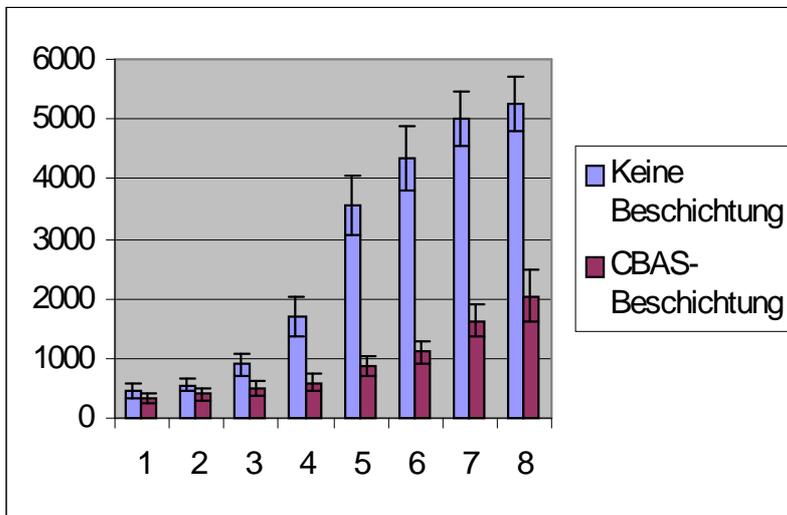
Beim Vergleich der Werte der jeweils korrespondierenden Abnahmezeitpunkte beider Gruppen finden sich bereits nach 5-minütiger Rezirkulation signifikante Unterschiede ($p<0,05$).

3.1.5 β -Thromboglobulin:

Vergleich der Mittelwerte des β -Thromboglobulins von 9 Rezirkulationen mit MAX-PRF und 9 Rezirkulationen CBMAX-PRF.

in IU/l:

Zirkulationszeit	MAX-PRF		MAX-PRF- ZX		p
	Mittelwert	Standardfehler	Mittelwert	Standardfehler	
0 Minuten	467,25	128,64	343,45	82,00	0,429
1 Minute	552,65	103,18	404,30	95,22	0,306
5 Minuten	898,40	194,99	494,46	132,07	0,106
10 Minuten	1693,62	320,24	590,80	143,40	0,006
20 Minuten	3570,63	495,53	863,60	157,26	0,000
30 Minuten	4350,61	530,79	1111,34	188,95	0,000
60 Minuten	5006,16	458,70	1629,13	256,51	0,000
90 Minuten	5254,08	457,61	2036,80	435,07	0,000



Die Ausgangswerte der beiden Versuchsgruppen liegen vor Beginn der Rezirkulation mit $467,25 \pm 128,64$ IU/l in der unbeschichteten MAX-PRF-Gruppe bzw. $343,45 \pm 82,00$ IU/l in der CBMAX-Vergleichsgruppe auf vergleichbarem Ausgangsniveau ($p=0,429$).

In der unbeschichteten MAX-PRF-Gruppe steigt die Konzentration für das β -Thromboglobulin ausgehend von $467,25 \pm 128,64$ IU/l kontinuierlich bis auf einen Endwert von $5254 \pm 457,61$ IU/l nach 90 Minuten an. Dies entspricht einer Zunahme von 1124%.

In der CBMAX-Vergleichsgruppe läßt sich ein weniger dramatischer Anstieg der Werte feststellen. Von einem Ausgangswert von $343,45 \pm 82,00$ IU/l bei Rezirkulationsbeginn läßt sich nach einer Rezirkulationsdauer von 90 Minuten ein Wert von $2036,80 \pm 435,07$ IU/l feststellen. Dies entspricht einer Zunahme von 592%.

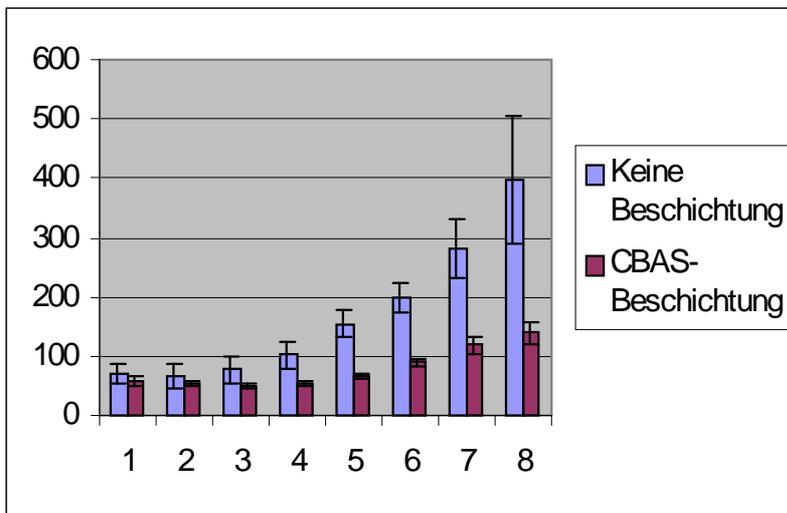
Beim Vergleich der Werte der jeweils korrespondierenden Abnahmezeitpunkte beider Gruppen findet sich bereits nach 10-minütiger Rezirkulation signifikante Unterschiede ($p<0,05$).

3.1.6 PMN-Elastase:

Vergleich der Mittelwerte der PMN-Elastase von 7 Rezirkulationen mit MAX-PRF und 9 Rezirkulationen CBMAX-PRF.

in $\mu\text{g/l}$:

Zirkulationszeit	MAX-PRF		MAX-PRF- ZX		p
	Mittelwert	Standardfehler	Mittelwert	Standardfehler	
0 Minuten	70,14	16,93	56,91	7,43	0,489
1 Minute	65,83	19,75	54,49	4,34	0,589
5 Minuten	77,19	23,97	50,13	5,26	0,299
10 Minuten	101,82	21,18	54,20	5,62	0,057
20 Minuten	154,23	22,05	65,42	4,95	0,004
30 Minuten	199,68	24,19	89,03	7,37	0,002
60 Minuten	280,56	48,99	119,10	13,92	0,011
90 Minuten	396,70	106,90	140,39	18,33	0,031



Die Ausgangswerte der beiden Versuchsgruppen liegen vor Beginn der Rezirkulation mit $70,14 \pm 16,93 \mu\text{g/l}$ in der unbeschichteten MAX-PRF-Gruppe bzw. $56,91 \pm 7,43 \mu\text{g/l}$ in der CBMAX-Vergleichsgruppe auf vergleichbarem Ausgangsniveau ($p=0,489$). Während der Rezirkulation lässt sich in der MAX-PRF-Kontrollgruppe ein kontinuierlicher Anstieg, der PMN-Elastase-Konzentration ausgehend von $70,14 \pm 16,93 \mu\text{g/l}$ bis auf $396,70 \pm 106,90 \mu\text{g/l}$ nach 90-minütiger Rezirkulation beobachten. Dies entspricht einer Zunahme um 565%.

In der CBMAX-Vergleichsgruppe ist ausgehend von $56,91 \pm 7,43 \mu\text{g/l}$ ein Anstieg auf $140,39 \pm 18,33 \mu\text{g/l}$ nach 90-minütiger Rezirkulation zu beobachten. Dies entspricht einer Zunahme um 246%.

Beim Vergleich der Werte der jeweils korrespondierenden Abnahmezeitpunkte beider Gruppen finden sich bereits nach 20-minütiger Rezirkulation signifikante Unterschiede ($p<0,05$).

4. Diskussion:

Die technische Durchführung einer Operation am offenen Herzen mit der Herz-Lungen-Maschine bereitet heute keine Schwierigkeiten mehr. Vielmehr ist das Augenmerk auf die Erforschung und Entwicklung neuer möglichst physiologischer und damit wenig thrombogener Werkstoffe gerichtet, die verhindern sollen, dass es zu einer Adhäsion von Plasmaproteinen und zellulären Bestandteilen an die als unphysiologisch erkannten Oberflächen mit allen sich daraus ergebenden Folgen und Reaktionen kommt. Der Kontakt des Blutes mit diesen Oberflächen fungiert als Aktivator von Entzündungsmediatoren, welche sowohl für postoperative Organdysfunktionen, Postperfusionssyndrom mit Lungen- und Nierendysfunktion, als auch für Gerinnungsstörungen verantwortlich sind. Es kommt sowohl zur Aktivierung der Kontaktphase (Faktor XII- Kallikrein-Kinin-System), der intrinsischen und extrinsischen Gerinnung, sowie der Fibrinolyse. Zusätzlich wird das Komplementsystem aktiviert. Dadurch kommt es zu einer Aktivierung von neutrophilen Granulozyten, welche mit der Freisetzung von Kathepsin G einhergeht. Dies wiederum führt zur Aktivierung von Thrombozyten, welche die inflammatorische Reaktion noch verstärken [159].

Die wirkungsvollste Methode ist bisher die Verwendung heparinbeschichteter Oberflächen sowie die Optimierung der Hämokompatibilität dieser vergüteten Oberflächen durch Applikation von Proteinaseinhibitoren, auf welche aber in dieser Arbeit nicht eingegangen werden soll.

Es stehen mehrere Heparinbeschichtungen zur Verfügung, welche sich zum Teil schon in langjährigem klinischen Einsatz befinden und die sich in der Art der Beschichtungstechniken unterscheiden. Gegenstand dieser Arbeit ist die weiter oben beschriebene CBAS-Beschichtung sowie die neue ZX bzw. ZX+H-Beschichtung, auf welche jedoch aufgrund der geringen und somit nicht aussagekräftigen Datenmenge nicht näher eingegangen werden soll. Die orientierenden Ergebnisse sind jedoch im Anhang dargestellt.

Einfluß unbeschichteter sowie CBAS-beschichteter HLM-Systeme auf die Heparinkonzentration

Zu Beginn der Rezirkulation werden in der Herz-Lungen-Maschine Heparinkonzentrationen von 3 IU/ml angestrebt, um einen adäquaten Gerinnungsschutz zu erhalten. Diese Zahl geht auf Hirsh et al. zurück, welcher zeigen konnte, dass bei in vitro-Versuchen die Zugabe von 3 bis 4 IU Heparin/ml eine Vergrößerung experimenteller Thromben verhindert [71]. Die Heparinzugabe erfolgt nach dem Abnahmezeitpunkt 1, kurz vor Füllung und Inbetriebnahme der Herz-Lungen-Maschine. Mit $3,06 \pm 0,13$ IU/ml in der Kontrollgruppe, bzw. $2,96 \pm 0,11$ IU/ml in der beschichteten CBMAX-Gruppe liegen die Werte im angestrebten Bereich. Sowohl in der Kontrollgruppe als auch in der CBMAX-Gruppe finden sich während der 90-minütigen Rezirkulation geringe Abfälle der Heparinkonzentrationen. So kann nach 90 Minuten in der Kontrollgruppe eine Konzentration von $2,66 \pm 0,09$ IU/ml und in der CBMAX-Gruppe ein Wert von $2,78 \pm 0,20$ IU/ml gemessen werden. Es finden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen.

Da der physiologische Abbau des Heparins in der Leber im in-vitro-Modell keine Rolle spielt, muß es für den Heparinverbrauch eine andere Erklärungen geben. Zum einen ist dieser Effekt zu einem geringen Teil einer Bindung des Heparins an Kalziumionen anzurechnen, was zu einem Abfall der Heparinkonzentration führt. Zum anderen kommt es während der Rezirkulation des Blutes zu einer mechanischen Traumatisierung des Blutes und damit der Thrombozyten sowie einer Anlagerung von Thrombozyten an die künstlichen Oberflächen der Herz-Lungen-Maschine. Beides führt zu einer Freisetzung von Degranulationsprodukten aus den Thrombozyten wie Plättchenfaktor 4, welches in der Lage ist, das Heparin zu antagonisieren und damit den Heparinspiegel zu senken [111],[185]. Weitere Gründe für eine Verringerung der Heparinkonzentration finden sich in frei im Plasma zirkulierendem Plättchenfaktor 4 [4] sowie einer Komplexbildung von AT III und Heparin, welcher nicht mehr als reine Heparinaktivität erfaßbar ist. Desweiteren wird Heparin genauso wie andere Proteine durch den Kontakt mit der Fremdoberfläche des Oxygenators denaturiert und somit in seiner Aktivität beeinflusst.

Bei der Carmeda® bioaktiven Oberfläche, wie sie die Oxygenatoren der CBMAX-Gruppe aufweisen, wird Heparin nach dem Prinzip der Endpunktbefestigung kovalent

gebunden, so dass ein Großteil der aktiven Heparinsequenzen frei im Blutstrom wirksam ist. Löst sich im Verlauf der Rezirkulation gebundenes Heparin von der Oberfläche ab, würde dies zu einer Erhöhung der Heparinkonzentration im zirkulierenden Volumen führen. Dieser Effekt läßt sich in der CBMAX-Gruppe jedoch nicht feststellen. Diese Tatsache spricht für die exzellente Stabilität der CBAS-Beschichtung.

Einfluß unbeschichteter sowie CBAS-beschichteter HLM-Systeme auf die Kontaktphasenaktivierung und das Kallikrein-Kinin-System

Die Kontaktphasenaktivierung ist gekennzeichnet durch eine Aktivierung von Hageman-Faktor (FXII) zu FXIIa und Praekallikrein zu Kallikrein, welche durch den Kontakt mit negativ geladenen Oberflächen ausgelöst wird. Dabei ist die Kallikreingenerierung durch einen Rückkopplungsmechanismus eng mit der Aktivierung von FXII verbunden [97]. Kallikrein welches über HMW-Kininogen an negative Oberflächen gebundenen ist, kann den ebenfalls oberflächengebundenen Hagemann-Faktor spalten und damit aktivieren. Der sich im Plasma verteilende β -FXIIa schließt den Kreis, indem er wiederum Plasma-Präkallikrein aktiviert. Es entsteht Kallikrein.

Als Parameter zur Beurteilung der Kontaktphasenaktivierung und des Kallikrein-Kinin-Systems wurden in der vorliegenden Arbeit die FXII-like-activity und die Kallikrein-like-activity bestimmt. Durch die enge funktionelle Verknüpfung der Kontaktphasenaktivierung mit dem Kallikrein-Kinin-System müßte man die beiden eigentlich zusammen betrachten. Aus Gründen der Übersicht sollen die beiden Parameter jedoch getrennt diskutiert werden.

Kallikrein-like-activity

Der Ausgangswert für die Kallikrein-like-activity zu Beginn der Rezirkulation liegt in der MAX-PRF-Kontrollgruppe bei $23,93 \pm 3,39$ U/l und in der CBMAX-Gruppe bei $24,27 \pm 3,82$ U/l. Damit liegen die Werte innerhalb des physiologischen Rahmens.

Von einigen Autoren wird beschrieben, dass schon bei der Blutabnahme die Werte für die Kallikrein-like-activity ansteigen. Begründet wird dies durch den Kontakt des Spenderbluts mit den thrombogenen Oberflächen der Metallkanüle und des Kunststoffschlauches bei der Blutentnahme, so dass es hierdurch bereits zu einer gewissen Aktivierung der Kontaktphase kommt. Im Konservenbeutel selbst befindet sich Citrat, welches die calciumabhängigen Schritte der Gerinnungskaskade hemmt und somit eine weitere Aktivierung der Gerinnung bei der Lagerung verhindert. Dieser Effekt läßt sich in unserer Versuchsreihe nicht nachweisen [5].

Verschiedene Autoren beschreiben sprunghafte Zunahmen der Kallikrein-like-activity nach der Hämodilution, welche der Kontaktphasenaktivierung zugeschrieben wird: nach dem Einfüllen in das Blutreservoir der Herz-Lungen-Maschine und der Durchmischung durch einige Umdrehungen der Rollerpumpe kommt das Blutgemisch in relativ kurzer Zeit mit der gesamten Oberfläche des Herz-Lungen-Maschinen - Modells in Berührung. Dies führt zu einem sprunghaften Anstieg der Werte zwischen der Abnahme direkt aus dem Konservenbeutel (AZP1) und der ersten Abnahme nach Beginn der Rezirkulation (AZP2). Desweiteren wird eine stetige Zunahme der Kallikrein-like-activity mit fortschreitender Zeitdauer beschrieben, welche auf die ständige mechanische Alteration an den Oberflächen von Pumpe, Filter, Oxygenator und Schlauchsystem zurückgeführt wird [93],[131]. Auch dieser Effekt läßt sich bei der vorliegenden Versuchsreihe weder in der Kontrollgruppe noch in der CBMAX-Gruppe feststellen.

Im Verlauf der Rezirkulation finden sich in beiden Gruppen nur geringfügige Anstiege der Aktivität, welche nach 90 Minuten um 12,8 % in der Kontrollgruppe, bzw. um 4 % in der CBMAX-Gruppe entsprechen. Ein Anstieg der Kallikrein-like-activity spiegelt eine Generierung von Kallikrein aus Präkallikrein wieder. Zwischen den beiden Gruppen findet sich jedoch zu keinem Zeitpunkt ein statistisch signifikanter Unterschied. Die tendenziell vorhandene geringere Kallikreinentstehung in der CBMAX-Gruppe resultiert aus der durch die CBAS-Beschichtung reduzierten FXII-Aktivierung. Dadurch entstehen in geringerem Maße α - und β - FXIIa-Konzentrationen, was wiederum zu einer geringeren Umwandlung von Präkallikrein zu Kallikrein führt.

Faktor-XII-like-activity

Die Bestimmung der Faktor XII-like activity spiegelt die Aktivierung des Faktor XII wieder. Die Ausgangswerte für die Faktor XII-like-activity der Blutkonserven liegen in der MAX-PRF-Kontrollgruppe bei $12,88 \pm 1,90$ U/l, in der CBMAX-PRF-Gruppe bei $12,39 \pm 1,49$ U/l. Sie unterscheiden sich somit nicht in ihrer Ausgangshöhe.

Während der 90 minütigen Rezirkulation kommt es zwischen AZP1 und AZP2 sowohl in der Kontrollgruppe, als auch in der CBMAX-Gruppe zu Anstiegen der Faktor XII-like-activity von 87,4 % (von $12,88 \pm 1,90$ U/l auf $24,14 \pm 3,01$ U/l) in der Kontroll-, bzw. von 79,9 % (von $12,39 \pm 1,49$ U/l auf $22,29 \pm 3,05$ U/l) in der CBMAX-Gruppe, um im weiteren Verlauf bis zum AZP8 nach 90 Minuten nur noch leicht auf Werte von $25,69 \pm 3,05$ U/l in der Kontrollgruppe, bzw. $23,89 \pm 2,94$ U/l in der CBMAX- Gruppe anzusteigen.

Der starke Anstieg der Aktivität nach der Hämodilution zwischen AZP 1 und AZP 2 dürfte weitgehend auf den weiter oben beschriebenen Effekt der Kontaktphasenaktivierung beim Befüllen und der Inbetriebnahme der Herz-Lungen-Maschine zuzuschreiben sein.

Durch die oben beschriebene enge funktionelle Verknüpfung und gegenseitige Beeinflußung von Kontaktphasenaktivierung und Kallikrein-Kinin-System ist damit zu rechnen, dass die Konzentrationsverläufe beider Parameter ähnliche Verläufe zeigen, so dass die Gründe für den Konzentrationsverlauf der Faktor XII-like-activity dieselben sind, wie für das Ansteigen der Kallikrein-like-activity.

Der aktivierte Faktor XII und das Kallikrein beeinflussen aber nicht nur das Kallikrein-Kinin-System, sondern führen auch zur Aggregation von neutrophilen Granulozyten und damit zur Freisetzung von PMN-Elastase, welches wiederum das Kinin-System aktivieren kann [180].

Einfluß unbeschichteter sowie CBAS-beschichteter HLM-Systeme auf die Thrombozytenzahl

Frühere Forschungsergebnisse haben bereits gezeigt, dass es bei einer CBAS-Beschichtung im Vergleich zu einer konventionellen Beschichtung zu einer geringeren Zerstörung der Thrombozyten kommt [122],[148],[167],[170],[183],[189]. Diese Ergebnisse konnten in dieser Studie bestätigt werden.

Die Thrombozytenausgangszahlen lagen mit $162,67 \pm 27,25 \cdot 10^3$ Zellen/ μl in der MAX-PRF- Gruppe bzw. $149,55 \pm 19,10 \cdot 10^3$ Zellen/ μl in der CBMAX-Gruppe in beiden Gruppen innerhalb der physiologischen Norm. Im Verlauf der Rezirkulation kam es in der Kontrollgruppe zu einem Abfall der Thrombozytenzahl auf 4% des Ausgangswertes nach einer Rezirkulationsdauer von 20 Minuten, was einer Thrombozytenzahl von $6,37 \pm 2,21 \cdot 10^3$ Zellen/ μl entspricht. Im weiteren Verlauf bis zum Rezirkulationsende erfolgte ein erneuter Anstieg der Thrombozyten auf $13,89 \pm 6,48 \cdot 10^3$ Zellen/ μl , was etwa 9% des Ausgangswertes entspricht.

In der CBMAX-Gruppe zeigte sich ein weniger deutlicher Abfall: im Verlauf der Rezirkulation kam es bis zum Rezirkulationsende zu einem maximalen Absinken der Thrombozytenzahl auf $42,48 \pm 9,31 \cdot 10^3$ Zellen/ μl , was 26% des Ausgangswertes entspricht.

Die Ursache für die Abnahme der Thrombozytenzahlen liegt in ihrer physiologischen Funktion, sich an als unphysiologisch erkannte Oberflächen zu aggregieren. Adsorbierte Plasmaproteine wie Faktor XII, HMWK, Fibrinogen, von-Willebrand Faktor, Vitronectin und andere führen zu einer Oberfläche, welche eine GPIIb/IIIa-Rezeptor-vermittelten Adhäsion und Aktivierung von Thrombozyten und in letzter Konsequenz eine Thrombozytenaggregation bewirken. Der GPIIb/IIIa-Rezeptor besteht aus zwei Untereinheiten, dem CD41-Antigen (=GPIIb) und dem CD61-Antigen (=GPIIIa). Der GPIIb/IIIa-Rezeptor dient als Bindungsort für oben genannte Proteine und leitet den Adhäsionsprozeß ein. [22],[60],[79],[139],[146],[158],[171],[176],[179]. Desweiteren kommt es durch die Bewegungen der Rollerpumpe zur traumatischen Destruktion und Aggregation. Ein weiterer Grund dürfte in hämodynamisch ungünstig gestalteten Kreislaufabschnitten des Oxygenatorsystems begründet liegen, wobei es in

einigen Abschnitten zu turbulenten Strömungen, in anderen Abschnitten hingegen zur Blutstase kommt. Eine weitere theoretische Möglichkeit könnte darin bestehen, dass außer den Wandflächen des Herz-Lungen-Maschinen-Systems auch kleinste im System zirkulierende Kleinstpartikel zu einer Aggregation führen [160].

Das erneute Ansteigen der Thrombozytenzahl in der Kontrollgruppe im Verlauf der Rezirkulation kann dadurch erklärt werden, dass sich Thrombozyten reversibel an Oberflächen binden und anschließend dem Blut wieder zugeführt werden und erneut rezirkulieren.

Der Abfall der Thrombozytenzahl ist in beiden Gruppen zu Beginn der Rezirkulation am stärksten ausgeprägt. Dies scheint auf eine sofort einsetzende Thrombozytenreaktion hinzudeuten. Nachdem die Fremdoberflächen dann einmal mit Thrombozyten überzogen sind, ergibt sich ein Gleichgewicht zwischen Thrombozytenaggregation und -wiederauflösung, so dass dann nur noch die fortlaufende mechanische Alteration die schwächere Reduktion der Thrombozyten herbeiführt.

Wenn man davon ausgeht, dass sowohl in der Kontroll- als auch in der CBMAX-Gruppe das Ausmaß der mechanischen Zerstörung durch hämodynamische Ungünstigkeiten sowie der Einfluß der Rollerpumpe gleich groß ist, muß man die Ursache für den weniger starken Abfall der Thrombozytenzahl in der CBMAX-Gruppe in der Beschichtungsart suchen, welche sich positiv auf die Plättchenzahl auswirkt. Das Ausmaß der Thrombozytenaggregation sowie der -destruktion ist in der heparinbeschichteten CBMAX-Gruppe signifikant niedriger als in der MAX-Kontrollgruppe. Diese Aussage wird ebenfalls durch die Werte für die β -Thromboglobulinkonzentrationen bestätigt.

Einfluß unbeschichteter sowie CBAS-beschichteter HLM-Systeme auf die β -Thromboglobulinkonzentration

Die Ausgangswerte für β -Thromboglobulin zu Beginn der Rezirkulation lagen bei der MAX-Kontrollgruppe bei $467 \pm 128,64$ IU/l und in der CBMAX-Gruppe bei $343,45 \pm 82,00$ IU/l. Bis zum Rezirkulationsende nach 90 Minuten stiegen die β -Thromboglobulinwerte in der Kontrollgruppe auf $5254,08 \pm 457,61$ IU/l an, was einer Zunahme von 1124% entspricht. In der CBMAX-Gruppe ließ sich ein Anstieg auf $2036,80 \pm 435,07$ IU/l feststellen, was einer Zunahme von 593% entspricht. Bereits nach 10 -minütiger Rezirkulation fanden sich zwischen den beiden Gruppen hochsignifikante Unterschiede.

β -Thromboglobulin diene in den durchgeführten Rezirkulationen zusammen mit der Thrombozytenzahl als Marker für das Ausmaß der Thrombozytenaktivierung bzw. -aggregation.

β -Thromboglobulin ist in den α -Granula der Thrombozyten lokalisiert und wird bei Thrombozytenaktivierung bzw. -aggregation aus diesen freigesetzt. Je mehr Thrombozyten aktiviert bzw. aggregiert werden, desto höher ist damit die Konzentration des β -Thromboglobulins im Serum. Dies spiegelt sich auch in den sich äquivalent zur Thrombozytenzahl verhaltenden Werten für das β -Thromboglobulin wieder. Der weniger starke Abfall der Thrombozytenzahl in der CBMAX-Gruppe im Vergleich zur MAX-Kontrollgruppe hat sein Äquivalent im weniger starken Anstieg der β -Thromboglobulinwerte der CBMAX-Gruppe. Es findet sich somit eine Bestätigung für obige Aussage, dass die CBMAX-Beschichtung das Ausmaß der Thrombozytenaggregation und -zerstörung günstig beeinflusst. Der Konzentrationsanstieg von β -Thromboglobulin und damit das Ausmaß der Thrombozytenaktivierung fällt in der beschichteten Gruppe signifikant geringer aus als in der unbeschichteten Gruppe.

Einfluß unbeschichteter sowie CBAS-beschichteter HLM-Systeme auf die PMN-Elastasekonzentration

PMN-Elastase ist ein vor allem in neutrophilen Granulozyten vorkommendes proteolytisches Enzym, welches eine wichtige Rolle beim Abbau von phagozytiertem Material spielt.

In den durchgeführten Versuchen diente es als Marker, um das Ausmaß der Granulozytenschädigung beurteilen zu können.

Die Ausgangswerte für die PMN-Elastase lagen mit $70,14 \pm 16,93 \mu\text{g/l}$ in der Kontrollgruppe, bzw. $56,91 \pm 7,43 \mu\text{g/l}$ in der CBMAX-Gruppe jeweils im Normbereich. Im Verlauf der Rezirkulation stieg die Konzentration der PMN-Elastase in der Kontrollgruppe kontinuierlich bis auf $396,70 \pm 106,91 \mu\text{g/l}$ an, was 565,6 % des Ausgangswertes entspricht. In der CBMAX-Gruppe lag die Elastase-Konzentration nach 90 Minuten bei $140,39 \pm 18,33 \mu\text{g/l}$, was einer Erhöhung auf 246,7 % entspricht. Die beiden Gruppen unterscheiden sich bereits nach 20 -minütiger Rezirkulationszeit signifikant im Konzentrationsanstieg ($p=0,004$). Die Konzentrationsanstiege für die PMN-Elastase zwischen AZP1 und AZP2 unterscheiden sich in der Höhe kaum von den Anstiegen der folgenden AZP, so dass eine massive Granulozytenschädigung zu Beginn der Rezirkulation durch Hämodilution und Inbetriebnahme der Herz-Lungen-Maschine nicht nachzuweisen ist. Da es sich bei der PMN-Elastase, wie bereits erwähnt um ein Glykoprotein aus Granulozyten handelt, welches bei Schädigung und Zerstörung derselben freigesetzt wird, können die in der CBMAX-Gruppe weniger stark ansteigenden Werte für die PMN-Elastase-Konzentration mit einer geringeren Schädigung der Granulozyten in dieser Gruppe erklärt werden. Unter der Berücksichtigung der Ergebnisse von Irvine [81], dass allein durch die Betrachtung der beiden Parameter FXII-activity und PMN-Elastasekonzentration aussagefähige Auswertungen über die Hämokompatibilität eines Oxygenatorsystems gemacht werden kann, schneidet unter dieser Berücksichtigung das CBAS-beschichtete Oxygenatormodell in Bezug auf seine Hämokompatibilität besser ab.

Eine geringere Leukozytenaktivierung und damit eine geringere Aktivierung des Komplementsystems durch Heparinbeschichtung konnte auch in anderen Studien nachgewiesen werden [13],[120],[166].

Erhöhte PMN-Elastasewerte führen zu einer verstärkten Aktivierung des Komplementsystems über C3 und C5. Durch den geringeren Anstieg der PMN-Elastase in heparinbeschichteten Systemen findet also auch eine geringere Komplementaktivierung statt. Diese positiven Effekte der Heparinbeschichtungen konnten auch in klinischen Untersuchungen bei Patienten gezeigt werden. Durch Komplementaktivierung hervorgerufene Lungenschädigungen konnten durch den Einsatz beschichteter Systeme reduziert werden [13],[95],[166]. Auch eine Reduktion der durch erhöhte PMN-Elastasekonzentrationen verursachten Nierentubulusschäden durch CBAS-Beschichtungen konnte nachgewiesen werden [66].

Die genauen Wirkmechanismen, die sich bei Kontakt von Blut mit heparinbeschichteten Oberflächen abspielen, sind jedoch immer noch nicht aufgeklärt. Es wird jedoch davon ausgegangen, dass die Adsorption von Plasmaproteinen an den unphysiologischen Fremdoberflächen entscheidend dazu beiträgt, ob dem vorbeiströmenden Blut aktivatorische oder inhibitorische Stimuli präsentiert werden. Wie Untersuchungen zu adsorbierten Plasmaproteinen zeigen konnten, weisen heparinbeschichtete und unbeschichtete Oberflächen ein vollkommen unterschiedliches Adsorptionsverhalten auf [38],[184]. Es konnte gezeigt werden, dass für die Thrombogenität einer Fremdoberfläche nicht hauptsächlich die Menge des adsorbierten Fibrinogens verantwortlich ist, sondern Überlagerungseffekte durch andere Plasmaproteine eine wesentlich bedeutendere Rolle spielen. Die selektive Adsorption von Plasmaproteinen führt einerseits zur Bildung einer blutfreundlichen Sekundärmembran auf der Oberfläche und verhindert andererseits eine weitere Denaturierung und somit Aktivierung der adsorbierten Proteine.

Mehrere Arbeitsgruppen konnten zeigen, dass die Adhäsion von Plasmaproteinen wie FXII, Fibrinogen etc. an Fremdoberflächen ein wesentliches Kriterium für die Thrombogenität derselben darstellt [19],[20],[171],[175]. Festphasengebundenes Fibrinogen führt zu einer starken Aktivierung der Thrombozyten, konsekutiver Adhäsion, Aggregation und in fortgeschrittenem Zustand zu Thrombosierungsprozessen.

Es konnte gezeigt werden, dass eine hohe Adsorption von HMWK an heparinbeschichteten Oberflächen stattfindet. Vermutlich stellt HMWK einen Hauptfaktor für die Passivierung einer Fremdoberfläche bei Blutkontakt dar, was auch

zu einer reduzierten Granulozytenadhäsion führt [89]. Heparinbeschichtete Oberflächen zeigen zudem eine wesentlich langsamere und insgesamt geringere Adsorption des Komplementfaktors C3. Die Anlagerung von C3 wird als Schlüsselmechanismus für die Adhäsion von Monozyten/Granulozyten, sowie weitere Aktivierung des Komplementsystems betrachtet [84]. Dies könnte u.a. die geringere PMN-Elastase-Freisetzung bei heparinbeschichteten Oxygenierungssystemen sowie die reduzierte Komplementaktivierung und die damit verminderte inflammatorischen Postbypass-Syndrome erklären.[83],[100].

Die Hämostase von Fremdoberflächen hängt also hauptsächlich davon ab, inwieweit der sich am natürlichen Endothel permanent im Wechselspiel befindende Prozeß der Aktivierung und Inhibition von humoralen und zellulären Mediatoren simuliert werden kann [38]. Die Vorteile der Heparinbeschichtung bestehen in der geringeren Adsorption von prokoagulatorischen und proinflammatorischen sowie der selektiven Adsorption von antikoagulatorischen und antiinflammatorischen Plasmaproteinen, die einerseits zu einer schnellen Bildung einer blutfreundlichen Sekundärmembran auf der Oberfläche führen und andererseits eine weitere Denaturierung und Aktivierung der adsorbierten Proteine verhindern [128].

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurde untersucht, welche Effekte heparinbeschichtete Oxygenationssysteme mit kovalenter Heparinbindung im Vergleich mit unbeschichteten Systemen gleicher Bauart auf unten angegebene Parameter besitzen. Es kamen dabei Membranoxygenatoren der Firma Medtronic Inc., Anaheim, CA, USA des Typs Maxima Plus zum Einsatz. Um eine Beeinflussung der Ergebnisse durch die individuelle Reaktionslage des Patienten, die Art der Operation und die Operationstechnik auszuschließen, wurde die extrakorporale Zirkulation in einem abgeschlossenen ex-vivo-Modell realitätsnah simuliert. Zu diesem Zweck wurde frisches humanes Vollblut über einen Zeitraum von 90 Minuten rezirkuliert, zu definierten Abnahmezeitpunkten Proben entnommen und die Konzentrationsverläufe verschiedener Parameter untersucht, um somit Aussagen über die Aktivitätsänderungen dieser Parameter in Abhängigkeit von der Oberflächenbeschichtung machen zu können. Um sowohl Aussagen über die Kontaktphasenaktivierung als auch über die Destruktion von zellulären Blutbestandteilen machen zu können, wurden die Konzentrations- und damit die Aktivitätsänderungen der Parameter Kallikrein-like-activity, Faktor XII-like-activity, PMN-Elastase, Thrombozytenzahl und β -Thromboglobulin bestimmt. Desweiteren wurden zu jedem Abnahmezeitpunkt bei allen Rezirkulationen die Heparinkonzentrationen der einzelnen Proben bestimmt, um Aussagen über die Stabilität der kovalenten Heparinbindung über eine längere Rezirkulationszeit machen zu können.

Die für diese Versuchsreihe benutzten Vollblutkonserven wurden rekalkifiziert und mit 3IU/ml Heparin ungerinnbar gemacht. Durch Hämodilution mit Ringer-Lösung, Glukoselösung sowie Natriumhydrogenkarbonat, Hypothermie und konstante Begasung mit einem Gasgemisch aus Sauerstoff (1 l/min) und Kohlendioxid (0,03 l/min) wurden klinische Bedingungen simuliert.

Die Heparinkonzentration lag zu Beginn der Rezirkulation im angestrebten Bereich von 3IU/ml, um dann im Verlauf der Rezirkulation abzusinken.

Zum einen ist der Grund hierfür in der Neutralisation des Heparins durch Bindung an Plättchenfaktor 4, β -Thromboglobulin, Thrombospondin und ATIII zu suchen.

Desweiteren findet eine Bindung von Heparin an Kalziumionen statt, was ebenfalls einen Konzentrationsabfall zur Folge hat.

Ein weiterer Grund dürfte die Denaturierung des zirkulierenden Heparins durch Kontakt mit Fremdoberflächen sowie Zerstörung durch mechanische Traumatisierung des Blutes während der Rezirkulation sein.

Es fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen.

Ein ausbleibender Konzentrationsanstieg in der beschichteten Gruppe spricht dabei für die exzellente Stabilität der kovalenten Heparinbindung.

In beiden Gruppen stiegen die Werte für die Kallikrein-like-activity sowie für die FXII-like-activity leicht an. Beide Parameter zeigen eine Aktivierung von Faktor XII und Kallikrein und damit der Kontaktphase durch Kontakt mit unphysiologischen Oberflächen sowie mechanischer Traumatisierung während der Rezirkulation an. Ein initialer Anstieg der Aktivität durch Blutabnahme, Hämodilution und Füllung der Herz-Lungen-Maschinen, bei der das Blutgemisch in relativ kurzer Zeit mit einer großen unphysiologischen Fläche Kontakt hat, ließ sich nur für die FXII-like-activity, nicht jedoch für die Kallikrein-like-activity feststellen. Die Konzentrationsanstiege fielen in der beschichteten Gruppe geringer aus als in der Kontrollgruppe. Statistisch signifikante Unterschiede fanden sich jedoch nicht.

Die Thrombozytenzahl fiel in der unbeschichteten Kontrollgruppe stark ab, um dann wieder gering anzusteigen. In der heparinbeschichteten Gruppe fand sich ein konstanter Abfall der Werte, der jedoch nicht so stark ausfiel wie in der Kontrollgruppe. Bereits nach 5 Minuten Rezirkulation fanden sich in beiden Gruppen hochsignifikante Unterschiede.

Die Ursachen für den Abfall der Thrombozytenzahl sind zum einen in der Destruktion durch Hämodilution, mechanische Traumatisierung sowie strömungsbedingten Zelluntergang zu suchen.

Zum anderen führen adsorbierte Plasmaproteine zu einer Sekundäroberfläche, an welcher eine GPIIb/IIIa-Rezeptor-vermittelte Adhäsion und Aktivierung von Thrombozyten und damit eine Thrombozytenaggregation an als unphysiologisch erkannten Oberflächen stattfindet. Dabei weisen heparinbeschichtete und unbeschichtete Oberflächen ein vollkommen unterschiedliches Adsorptionsverhalten auf. Bei heparinbeschichteten Oberflächen findet vermutlich eine hohe Adsorption von

HMWK statt, was wahrscheinlich zu einer Passivierung der Fremdoberfläche und damit einem geringeren Thrombozytenabfall führt. Die selektive Adsorption führt einerseits zur Bildung einer blutfreundlichen Sekundärmembran auf der Oberfläche und verhindert andererseits eine weitere Denaturierung und somit Aktivierung der adsorbierten Proteine.

Wenn davon ausgegangen wird, dass die Destruktion durch Strömungsphänomene, Hämodilution und mechanische Traumatisierung in beiden Gruppen gleich groß ist, bestätigt der weniger starke Abfall der Thrombozytenzahl in der beschichteten Gruppe die verbesserte Hämokompatibilität der CBAS-Beschichtung.

β -Thromboglobulin stammt aus Thrombozyten und wird bei Schädigung freigesetzt. Der Konzentrationsanstieg für β -Thromboglobulin fiel in der beschichteten Gruppe weniger stark aus als in der unbeschichteten. Es lässt sich somit ein äquivalenter Verlauf der β -Thromboglobulinwerte zu den Thrombozytenwerten feststellen, was somit ebenfalls auf die verbesserte Hämokompatibilität der CBAS-Beschichtung schließen lässt und obige Aussagen stützt.

Die PMN-Elastase dient als Marker für das Ausmaß der Granulozytenschädigung. Die Werte für die PMN-Elastase steigen in beiden Gruppen an, wobei der Anstieg in der CBAS-Gruppe bereits Minuten nach 20 signifikant geringer ausfiel und somit ebenfalls auf die verbesserte Hämokompatibilität der CBAS-Beschichtung schließen lässt.

Wie oben beschrieben stellt HMWK vermutlich einen Hauptfaktor für die Passivierung einer Fremdoberfläche bei Blutkontakt dar. Dies führt neben der verminderten Thrombozytenaggregation auch zu einer reduzierten Granulozytenadhäsion. Wie in verschiedenen Studien gezeigt werden konnte [84],[89], zeigen heparinbeschichtete Oberflächen zudem eine wesentlich langsamere und insgesamt geringere Adsorption des Komplementfaktors C3. Die Anlagerung von C3 wird als Schlüsselmechanismus für die Adhäsion von Monozyten/Granulozyten, sowie weitere Aktivierung des Komplementsystems betrachtet. Hierdurch kann u.a. die geringere Elastase-Freisetzung bei heparinbeschichteten Oxygenierungssystemen sowie die reduzierte Komplementaktivierung und die damit verminderten inflammatorischen Postbypass-Syndrome erklärt werden.

Abschließend kann gesagt werden, dass durch den Einsatz der extrakorporalen Zirkulation mittels Herz-Lungen-Maschine alle Blutzellen durch den Kontakt mit unphysiologischen Oberflächen und auf chemisch-mechanischem Weg geschädigt werden. Außerdem kommt es zu einer Aktivierung der Kontaktphase, des Kallikrein-Kinin-Systems sowie des Komplementsystems und aller darauf folgenden Reaktionen. Die Hämokompatibilität von Fremdoberflächen hängt dabei hauptsächlich davon ab, inwieweit der sich am natürlichen Endothel permanent im Wechselspiel befindende Prozeß der Aktivierung und Inhibition von humoralen und zellulären Mediatoren simuliert werden kann. Die Vorteile der Heparinbeschichtung bestehen in der geringeren Adsorption von prokoagulatorischen und proinflammatorischen sowie der selektiven Adsorption von antikoagulatorischen und antiinflammatorischen Plasmaproteinen, die einerseits zu einer schnellen Bildung einer blutfreundlichen Sekundärmembran auf der Oberfläche führen und andererseits eine weitere Denaturierung und Aktivierung der adsorbierten Proteine verhindern.

In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass CBAS-beschichtete Oxygenatorsysteme zu einer Reduzierung der Aktivierung der Kontaktphase, der Granulozytenschädigung, der Thrombozytenaktivierung sowie der Hämostasestörungen und damit des Blutverlustes führen.

Desweiteren konnte erneut gezeigt werden, dass es sich bei der CBAS-Beschichtung um eine Beschichtung handelt, welche sich durch exzellente Stabilität über die 90-minütige Rezirkulation auszeichnet. Auf diese Art und Weise heparinisierte Oberflächen erhöhen somit die Hämokompatibilität der während der ECC verwendeten künstlichen Materialien, welches sich durch postoperativ einfacheres Management durch weniger bzw. geringere Komplikationen wie Postperfusionssyndrom, akutes Lungenversagen, Sepsis und Multiorganversagen auswirkt. Sie tragen somit zur schnelleren und risikioloseren Rekonstitution der Patienten bei. Nichtsdestotrotz sind weitere Forschung und Entwicklungen nötig, um die Hämokompatibilität der verwendeten Materialien weiter zu verbessern und somit die unerwünschten Effekte, welche beim Einsatz der Herz-Lungen-Maschine auftreten weiter minimieren zu können. Neben der Entwicklung von physiologischeren Oberflächen ist es jedoch auch nötig, die Erforschung der Möglichkeiten der pharmakologischen Inhibition von

Schlüsselenzymen intensiv zu betreiben, um somit die unerwünschten Effekte zum Wohle des Patienten minimieren zu können.

6. Tabellenanhang:

6.1 Rohdaten:

Hämatokritkorrigierte Einzelwerte

6.1.1 Versuchsreihe 1:

Heparinkonzentration/ MAX-PRF:

Lauf	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
1	3,10	2,60	2,70	2,30	2,30	2,50	2,40
5	3,30	3,00	2,90	2,70	2,70	2,70	2,70
7	3,20	3,00	2,90	3,00	2,90	2,80	2,60
9	2,80	2,70	3,00	2,50	2,60	2,20	2,30
11	3,30	3,00	3,40	3,00	2,90	2,80	2,70
13	3,70	3,60	3,30	3,60	3,40	3,30	3,30
15	3,00	3,20	3,30	3,00	2,80	2,70	2,70
18	2,60	2,90	2,60	2,30	2,50	2,30	2,50
19	2,50	2,80	3,10	3,00	3,10	2,80	2,70

Heparinkonzentration/ CBMAX-PRF:

Lauf	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
3	3,00	3,10	3,20	3,00	3,00	3,10	3,00
4	2,60	2,60	2,70	2,60	2,60	2,50	2,50
8	3,10	3,00	2,80	2,90	2,70	2,90	2,80
10	2,40	2,40	2,20	2,10	2,30	2,40	1,60
14	3,20	3,20	3,20	3,20	3,00	3,20	2,80
16	3,30	3,20	3,20	3,30	3,20	3,30	3,30
17	3,20	3,00	3,10	3,40	2,90	2,90	3,50
20	2,90	2,90	2,50	2,80	3,00	2,60	2,70

Kallikrein-like activity/ MAX-PRF:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
1	18,82	16,83	19,00	17,36	19,00	19,54	20,35	22,79
5	18,14	18,50	17,70	18,50	16,88	19,04	17,70	19,31
7	13,78	18,30	18,02	16,94	17,75	18,56	18,56	21,03
9	39,82	35,24	37,37	36,32	40,02	41,35	41,87	40,55
11	13,10	16,96	17,22	17,73	17,73	18,00	19,30	19,83
13	39,98	32,75	33,28	31,16	33,55	35,40	34,87	36,44
15	27,72	25,55	24,51	25,82	24,78	26,86	26,08	28,16
18	24,86	25,17	23,59	23,59	25,17	25,23	28,84	31,46
19	19,15	22,62	19,96	21,83	21,56	22,62	22,62	23,41

Kallikrein-like activity/ CBMAX-PRF:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
3	16,46	15,44	16,52	15,98	15,70	16,25	16,25	18,15
4	13,27	14,84	15,12	16,22	15,40	16,22	15,94	16,22
8	30,41	26,73	24,87	25,46	25,12	28,86	27,27	28,61
10	16,80	17,90	17,36	18,69	16,56	18,96	19,23	22,16
12	48,89	38,55	38,55	38,02	36,71	36,97	37,75	41,95
14	32,42	28,58	27,00	27,52	27,52	29,38	30,40	32,03
16	24,70	21,76	22,82	22,82	21,23	21,77	23,09	25,48
17	20,83	21,47	20,67	22,25	20,41	21,72	21,47	23,29
20	14,62	19,75	16,85	16,58	15,27	16,33	18,70	19,48

F XII-like activity/ MAX-PRF:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
1	14,62	20,35	20,90	20,90	20,90	21,71	21,98	23,34
5	11,42	20,11	20,65	21,72	20,91	21,99	21,72	21,72
7	2,86	15,57	14,47	15,57	15,83	16,94	16,94	18,56
9	23,69	40,02	41,08	39,76	41,35	41,35	44,52	42,68
11	8,06	13,82	13,82	12,52	12,52	12,27	13,04	13,57
13	11,42	37,24	32,48	33,28	34,87	35,65	35,65	36,71
15	14,78	26,08	26,08	24,78	25,30	25,04	26,34	27,65
18	15,46	23,86	26,74	23,86	26,48	25,68	28,30	27,26
19	13,61	20,23	19,42	19,69	20,23	19,42	20,75	19,69

FXII-like-activity/ CBMAX-PRF:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
3	12,43	18,41	18,96	19,23	18,68	18,96	18,68	20,31
4	4,70	13,19	12,37	12,65	12,37	13,19	13,47	14,30
8	13,78	30,74	29,95	27,80	29,95	31,81	30,47	31,54
10	12,26	20,30	18,42	20,57	19,76	20,57	21,63	21,63
12	21,84	40,37	39,06	40,90	39,59	41,68	40,37	41,17
14	13,44	27,25	27,25	28,32	26,46	29,90	27,00	29,90
16	12,60	22,55	23,34	23,61	22,55	23,34	23,34	23,61
17	10,42	15,44	15,92	15,17	15,97	15,97	16,75	17,01
20	10,08	12,38	14,75	14,22	14,75	15,01	16,58	15,53

Thrombozyten/ MAX-PRF:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
1	209,00	158,29	21,00	3,23	9,69	21,00	48,46	61,38
5	56,00	44,68	20,75	6,38	4,79	9,57	1,60	1,60
7	329,00	185,29	110,52	45,51	14,63	9,75	32,51	24,38
9	75,00	69,42	15,78	3,16	0,00	3,16	15,78	15,78
11	157,00	127,34	83,86	29,50	3,11	1,55	1,55	0,00
13	115,00	108,48	78,61	44,02	18,87	3,14	3,14	4,72
15	209,00	114,88	35,71	12,42	3,10	1,55	6,21	9,31
18	163,00	106,10	60,85	17,16	3,12	6,24	10,92	4,68
19	151,00	72,86	23,76	4,75	0,00	1,58	6,34	3,17

Thrombozyten/ CBMAX-PRF:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
3	194,00	161,21	153,15	153,15	148,32	138,64	106,40	96,73
4	81,00	76,64	61,96	60,33	52,18	50,55	45,66	35,87
8	192,00	133,66	109,79	85,92	73,19	41,37	33,41	39,78
10	107,00	100,13	85,83	71,52	44,50	20,66	6,36	14,30
12	175,00	98,32	53,06	49,94	34,33	29,65	60,86	78,03
14	43,00	124,45	94,52	72,46	31,51	29,93	28,35	40,96
16	187,00	107,40	113,71	101,08	67,91	34,75	9,48	11,06
17	172,00	99,70	84,12	60,76	60,76	54,52	43,62	35,83
20	195,00	123,82	103,47	72,10	28,21	6,27	14,11	29,78

β -Thromboglobulin/ MAX-PRF:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
1	1266,90	1064,38	2153,12	3830,35	5662,75	6053,15	6098,51	6324,64
5	490,60	387,33	425,19	767,66	1401,48	1494,33	1832,24	2008,10
7	829,03	736,30	932,93	1717,34	3924,42	4778,01	5316,40	5653,08
9	601,12	816,02	1308,52	2394,11	5549,83	6045,21	6157,76	6594,83
11	69,61	99,20	289,29	1064,52	2145,11	2329,48	5107,84	5595,82
13	88,18	160,55	268,14	725,69	2547,66	3545,03	4101,32	4777,12
15	274,00	653,12	921,56	1326,88	2652,15	5330,30	6246,27	6253,13
18	255,58	486,21	870,77	1739,73	4026,76	4573,46	4902,32	4995,69
19	330,21	570,71	916,09	1677,29	4225,47	5006,49	5292,77	5084,29

β-Thromboglobulin/ CBMAX-PRF:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
3	635,09	495,98	473,41	530,28	594,64	677,25	946,93	1097,15
4	144,28	75,79	88,10	109,20	164,61	232,07	400,73	525,31
8	112,92	165,88	252,50	383,85	638,42	903,35	1143,17	1237,82
10	178,27	306,16	305,70	380,24	719,77	1083,38	2520,23	4903,89
12	353,09	519,21	776,33	1005,35	1844,77	2242,63	2376,64	2581,14
14	719,65	991,48	1394,46	1522,66	1229,58	1362,09	1857,78	2240,23
16	144,36	249,89	249,89	278,77	755,69	1199,31	2438,60	2636,92
17	614,91	626,80	602,75	646,83	779,70	825,85	1026,81	1085,81
20	188,52	207,49	306,95	460,04	1045,20	1476,11	1951,32	2022,92

PMN-Elastase/ MAX-PRF:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
1	121,33	86,17	120,51	124,23	141,45	183,12	590,73	1195,06
5	46,72	20,76	14,65	48,26	108,74	144,71	162,28	178,47
7	28,05	32,08	40,54	33,32	57,86	63,99	80,08	114,81
9	29,84	36,62	44,66	71,12	145,87	213,63	243,30	252,00
11	56,41	45,38	48,95	75,80	99,15	149,05	220,09	265,00
13	41,77	49,71	60,06	111,77	152,99	224,59	273,34	295,82
15	175,34	212,26	248,76	242,43	271,49	247,43	225,17	361,25
18	97,26	79,98	89,53	141,73	232,06	278,37	367,04	486,66
19	34,53	29,49	27,07	67,70	178,44	292,27	362,98	421,20

PMN-Elastase/ CBMAX-PRF:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
3	76,60	73,59	74,24	80,33	88,14	107,13	118,82	132,24
4	18,31	43,83	31,85	26,86	50,32	81,09	93,57	120,58
8	44,88	58,03	50,07	68,25	74,34	86,91	125,38	133,09
10	47,23	60,95	41,58	60,14	53,58	70,36	92,33	114,05
12	69,16	52,30	75,53	67,42	71,40	77,51	94,00	97,02
14	57,94	36,23	41,54	41,62	50,93	62,92	112,63	150,80
16	39,07	37,94	41,00	44,22	65,81	93,04	222,00	273,70
17	93,13	68,17	52,05	57,77	83,66	85,17	128,48	156,13
20	65,89	59,39	43,32	41,17	50,59	137,18	84,65	85,94

6.1.2 Versuchsreihe 2:

Heparinkonzentration PRF-MAX/ Kontrollgruppe:

Lauf	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
23	2,2	3,6	3,5	3,4	3,6	3,7	2,7
24	3,3	3,0	3,3	3,2	3,5	2,8	3,4
25	3,1	2,8	2,8	3,1	2,9	2,9	3,0

Heparinkonzentration PRF-MAX ZX:

Lauf	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
21	2,0	3,1	2,8	2,8	2,6	2,6	2,9
27	2,3	3,1	3,4	3,1	3,4	2,9	3,3
28	2,8	3,2	2,8	2,9	2,7	3,1	3,4

Heparinkonzentration PRF-MAX ZX+H:

Lauf	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
22	2,9	3,8	3,4	3,5	3,6	2,3	3,5
26	3,1	3,4	3,3	3,3	3,7	3,3	3,8
29	3,5	2,9	3,1	3,2	3,1	2,9	2,9

F XII-like activity PRF-MAX / Kontrollgruppe :

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
23	9,91	26,00	21,79	23,90	22,32	24,42	23,37	26,80
24	9,58	16,02	16,02	16,02	15,76	16,29	16,54	16,81
25	14,28	23,18	23,45	23,45	22,93	23,45	23,71	25,56

F XII-like activity PRF-MAX ZX:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
21	11,26	20,60	19,54	19,81	20,34	19,81	20,34	20,86
27	25,54	37,97	34,82	36,65	32,96	36,92	36,39	37,45
28	16,13	24,10	24,10	23,83	24,37	23,56	25,44	24,37

F XII-like activity PRF-MAX ZX+H:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
22	13,44	26,37	25,31	25,31	25,84	25,84	25,58	28,74
26	17,30	26,58	26,58	26,05	26,05	27,63	27,90	27,90
29	15,79	23,18	24,25	24,25	23,45	23,72	23,45	25,30

Kallikrein-like activity PRF-MAX / Kontrollgruppe:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
23	21,34	24,42	21,28	22,06	21,28	23,64	21,79	23,37
24	13,94	16,81	16,02	17,07	16,54	18,38	20,23	20,23
25	20,33	21,86	21,08	21,35	19,76	24,50	20,55	25,03

Kallikrein-like activity PRF-MAX ZX:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
21	22,34	25,09	21,40	23,50	21,13	23,77	24,31	25,36
27	36,46	30,06	32,18	27,42	33,23	31,91	33,75	31,11
28	20,16	20,35	21,42	22,22	21,69	23,03	22,76	23,30

Kallikrein-like activity PRF-MAX ZX+H:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
22	24,70	23,20	20,83	22,68	23,20	24,78	21,10	25,84
26	24,02	26,32	24,22	27,63	23,15	28,41	26,32	31,85
29	25,37	23,45	23,72	23,98	25,03	25,03	25,82	26,62

PMN-Elastase PRF-MAX / Kontrollgruppe:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
23	39,12	39,55	43,54	67,37	95,03	133,45	150,11	162,87
24	63,95	60,44	68,18	85,39	100,62	145,42	219,94	274,42
25	52,12	50,88	62,00	93,82	147,82	212,12	284,82	267,39

PMN-Elastase PRF-MAX ZX:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
21	58,40	24,37	34,97	64,87	200,22	288,90	304,70	327,31
27	80,63	74,94	80,29	160,42	201,01	298,52	349,59	422,67
28	46,16	33,64	41,69	63,64	99,08	106,24	160,04	160,93

PMN-Elastase PRF-MAX ZX+H:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
22	133,42	116,31	122,40	153,79	243,51	288,10	326,10	372,07
26	33,76	30,04	79,40	70,14	56,16	88,52	161,78	172,24
29	63,09	41,36	42,40	64,64	129,03	202,47	346,95	430,61

Thrombozyten PRF-MAX / Kontrollgruppe:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
23	184,00	71,91	35,95	12,51	0,00	0,00	4,69	9,38
24	195,00	129,76	75,04	18,76	1,56	0,00	1,56	6,25
25	123,00	39,20	14,12	1,57	6,27	0,00	0,00	0,00

Thrombozyten PRF-MAX ZX:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
21	156,00	62,89	28,30	11,01	9,43	0,00	4,72	4,72
27	190,00	61,22	6,28	3,14	3,14	10,99	28,25	39,24
28	93,00	30,28	12,75	4,78	1,59	0,00	0,00	11,16

Thrombozyten PRF-MAX ZX+H:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
22	129,00	73,77	39,24	15,70	4,71	0,00	4,71	4,71
26	224,00	73,62	32,89	10,96	3,13	4,70	20,36	36,03
29	154,00	105,10	58,04	29,80	4,71	1,57	4,71	14,12

β -Thromboglobulin PRF-MAX / Kontrollgruppe:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
23	357,35	776,18	1190,83	1947,26	4435,11	5395,78	5864,55	6195,52
24	163,98	279,55	734,06	1488,22	4651,13	5947,95	6351,65	6768,13
25	234,41	572,66	1005,18	1394,70	3022,23	3594,87	3726,67	4260,71

β -Thromboglobulin PRF-MAX ZX:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
21	259,37	398,92	631,43	1261,45	2976,37	3563,19	4236,84	4174,90
27	661,09	1201,82	4760,60	6802,92	8533,94	9424,95	9846,63	9237,87
28	645,63	1608,30	2369,48	3064,53	4335,04	5043,46	6226,00	6375,72

β -Thromboglobulin PRF-MAX ZX+H:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
22	284,75	507,84	1030,30	1519,80	3812,80	4092,58	4322,34	4475,35
26	56,64	325,78	524,37	1303,74	3773,28	4860,50	6096,27	5779,86
29	255,20	359,55	708,67	1460,38	4133,08	5147,77	5585,82	5818,91

6.1.3 Versuchsreihe 3:

Heparinkonzentration PRF-MAX/ Kontrollgruppe mit Heparinblut:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
36	8,7	5,4	5,4	5,3	5,1	4,8	5,2	4,8
37	7,5	5,6	5,5	5,7	5,3	5,3	5,4	5,6
38	8,5	5,4	5,5	5,3	5,6	5,5	5,5	5,9

Heparinkonzentration PRF-MAX ZX mit Heparinblut:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
31	7,6	3,9	3,9	3,6	3,6	3,7	2,8	2,8
32	3,9	3,7	4,0	3,6	3,5	3,2	3,1	2,8
34	4,2	3,7	3,7	3,6	3,7	3,5	3,3	3,3

Heparinkonzentration PRF-MAX ZX+H mit Heparinblut:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
30	7,9	3,7	4,0	4,2	4,1	4,4	3,9	4,1
33	3,9	3,8	3,7	3,5	3,7	3,7	3,4	3,5
35	6,5	4,7	4,5	4,6	4,6	4,9	4,3	4,9

F XII-like activity PRF-MAX / Kontrollgruppe mit Heparinblut:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
36	16,97	17,18	17,18	18,23	18,23	18,77	18,23	18,77
37	19,66	20,37	20,11	18,82	18,82	19,86	19,34	20,37
38	33,77	34,29	34,82	34,02	35,88	34,29	32,71	32,71

F XII-like activity PRF-MAX ZX mit Heparinblut:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
31	34,61	26,38	25,28	26,10	26,64	26,38	27,46	28,27
32	31,58	27,58	28,66	28,94	27,04	25,96	27,59	27,04
34	21,84	18,76	19,04	18,22	18,39	19,04	20,66	20,38

F XII-like activity PRF-MAX ZX+H mit Heparinblut:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
30								
33								
35								

Kallikrein-like activity PRF-MAX / Kontrollgruppe mit Heparinblut:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
36	24,19	15,59	16,12	17,96	17,96	18,50	18,77	20,09
37	22,51	20,37	19,34	21,66	20,37	21,15	20,89	20,63
38	50,40	33,51	33,51	35,08	37,20	38,51	36,93	37,20

Kallikrein-like activity PRF-MAX ZX mit Heparinblut:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
31	41,83	29,92	30,19	29,36	30,19	29,92	31,83	34,27
32	31,58	22,18	22,71	23,26	24,88	24,06	24,88	24,88
34	25,37	19,31	19,57	17,16	19,31	19,84	20,91	20,91

Kallikrein-like activity PRF-MAX ZX+H mit Heparinblut:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
30								
33								
35								

PMN-Elastase PRF-MAX / Kontrollgruppe mit Heparinblut:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
36	114,95	72,28	88,33	116,17	272,12	423,58	573,39	528,91
37	59,87	63,26	46,90	72,58	320,30	407,28	434,76	450,11
38	59,06	41,07	49,57	51,56	107,71	214,24	175,71	219,80

PMN-Elastase PRF-MAX ZX mit Heparinblut:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
31	26,57	25,67	16,59	36,74	36,98	46,72	102,98	84,84
32	25,60	21,58	14,19	30,37	28,49	22,74	60,74	72,66
34	77,72	54,86	46,72	46,72	47,05	69,93	99,95	87,05

PMN-Elastase PRF-MAX ZX+H mit Heparinblut:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
30	35,39	28,90	32,23	37,70	67,78	81,98	128,32	173,17
33	54,37	31,94	51,78	49,89	72,03	46,42	58,04	63,58
35								

Thrombozyten PRF-MAX / Kontrollgruppe mit Heparinblut:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
36	177,00	122,35	76,90	19,23	3,50	12,23	11,36	4,37
37	200,00	121,11	38,38	3,41	1,71	4,26	5,97	9,38
38	150,00	109,91	34,89	23,55	17,45	1,74	0,00	6,11

Thrombozyten PRF-MAX ZX mit Heparinblut:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
31	119,00	137,56	132,71	123,00	108,43	106,81	100,34	118,14
32	219,00	167,38	148,06	144,84	96,56	51,50	33,80	78,86
34	219,00	134,08	79,81	30,33	4,79	0,00	6,38	14,37

Thrombozyten PRF-MAX ZX+H mit Heparinblut:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
30	191,00	139,10	110,62	78,78	25,14	18,44	46,93	80,45
33	222,00	179,16	163,02	133,97	95,23	37,12	6,46	19,37
35	201,00	143,61	41,49	4,79	3,19	3,19	12,77	30,32

β -Thromboglobulin PRF-MAX / Kontrollgruppe mit Heparinblut:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
36	639,46	864,66	1066,59	1880,26	4223,48	4947,31	4899,34	5233,66
37	323,68	287,49	606,60	1673,00	3880,67	4759,46	5210,23	5189,42
38	218,78	304,93	588,20	1334,41	3552,24	3935,28	4739,55	5174,48

β -Thromboglobulin PRF-MAX ZX mit Heparinblut:

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
31	263,37	209,21	225,09	323,23	579,73	876,53	1331,90	1548,62
32	180,30	218,55	265,55	408,20	977,07	1635,59	3643,65	4083,99
34	196,92	273,59	339,20	776,90	1876,50	2200,60	4032,30	4174,52

β -Thromboglobulin PRF-MAX ZX+H mit Heparinblut

Lauf	AZP 1	AZP 2	AZP 3	AZP 4	AZP 5	AZP 6	AZP 7	AZP 8
30	333,16	349,28	434,18	685,14	2014,91	2306,75	4658,15	4940,27
33	546,42	585,96	599,44	619,16	863,69	1415,54	4087,73	4502,36
35	432,87	378,39	598,72	2094,82	4288,59	4532,29	5047,20	5370,09

7. Literaturverzeichnis

- [1] Ammundsen, N. E., Gallimore, M. J., Aasen, A. O., Larsbraten, M., Lyngaas, K. (1978):
Activation of human plasma prekallikrein: influence of activators, activation time and temperature and inhibitors.
Thromb. Res. 13, 625-636.
- [2] Andrade, J. D., Hlady, V., Wie, A. P., Lea, A. S., Jeon, S. I., Lin, Y. S., Stroup, E. (1992):
Principles, multivariate aspects, protein resistant surfaces, and direct imaging and manipulation of adsorbed proteins.
Clin. Mater. 11, 67-84.
- [3] Barrowcliffe, T. W., Johnson, E. A., Thomas, D. P. (1978)
Antithrombin III and heparin.
Br. Med. Bull. 34, 143-150.
- [4] Barrowcliffe, T. W., Thomas, D. P. (1987)
Antithrombin III and heparin.
in: Bloom, A.L., Thomas, D.P.: Haemostasis and Thrombosis.
Churchill Livingstone, Edinburgh, London, New York, 849-869.
- [5] Barthels, R.H., Stangel, W., Poliwoda, H., Trobisch, H. (1974):
Untersuchungen zur Frage der Aktivierung des Gerinnungssystems in Blutkonserven.
Blut XXIX, 289-296.
- [6] Begg, G.S., Pepper, D.S., Chesterman, C.N., Morgan, F.J. (1978):
Complete covalent structure of human β -Thromboglobulin.
Biochemistry, Wash. 17, 1739.
- [7] Benayahu, D., Arosan, M. (1983):
Comparative study of protamine chloride and sulfate in relation to heparin rebound phenomenon.
Thromb. Res. 32, 109-114.
- [8] Berrettini, M., Lämmle, B., Griffin, J. H. (1987):
Initiation of coagulation and relationships between intrinsic and extrinsic coagulation pathways.
In: Verstraete, M., Vermynen, J., Lijen, R., Arnout, J.; Thrombosis XIth Congress Haemostasis
Leuven University Press, Leuven, 473-495.
- [9] Blutgerinnung (1981):
Testfibel der Firma Boehringer Mannheim GmbH.

- [10] Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, Deutschland.
Asserachrom β -TG. Enzymimmunologischer in-vitro Test zur quantitativen Bestimmung von β -Thromboglobulin, Laborvorschrift.
- [11] Boonstra, P. W., Gu, Y. J., Akkerman, C., Haan, J., Huyzen, R., van Oeveren, W. (1994):
Heparin coating of an extracorporeal circuit partly improves hemostasis after cardiopulmonary bypass.
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 107, 289-292.
- [12] Borowiec, J. W., Hagman, L., Totterman, T. H., Pekna, M., Venge, P., Thelin, S. (1995):
Circulating cytokines and granulocyte-derived enzymes during complex heart surgery. A clinical study with special reference to heparin-coating of cardiopulmonary bypass circuits.
Scand. J. Thorac. Surg. 29, 167-174.
- [13] Borowiec, J.W., Thelin, S., Bagge, L., Nilsson, L., Venge, P., Hansson, H.E. (1992):
Heparin-coated circuits reduce activation of granulocytes during cardiopulmonary bypass.
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 104, 642-647.
- [14] Boughton, M.J., Allington, M.J., King, A. (1978):
Platelet and plasma β -Thromboglobulin in myeloproliferative syndromes and secondary thrombocytosis.
Br. J. Haematol. 40, 125.
- [15] Bouma, B. N., Griffin, J. H. (1978):
Deficiency of factor XII-dependent plasminogen proactivator in prekallikrein-deficient plasma.
J. Lab. Clin. Med. 91 / 1, 148-155.
- [16] Bouma, B. N., Griffin, J. H. (1980):
Mechanism of activation of human coagulation factor XI and plasma prekallikrein.
In: Peter, H.: *Protides of the biological fluids*, Proceedings of the twenty-eight colloquium, Pergamon Press, Oxford, England, 197-200.
- [17] Bouma, B. N., Griffin, J. H. (1986):
Initiation mechanisms: The contact activation system in plasma.
In: Zwaal, R. F., Hehmer, H. C.: *Blood coagulation*, Elsevier, Amsterdam, New York, Oxford, 96-113.
- [18] Bozdayi, M., Borowiec, J., Nilsson, L., Venge, P., Thelin, S., Hansson, H.-E. (1996):
Effects of heparin coating of cardiopulmonary bypass circuits on in vitro oxygen free radical production during coronary bypass surgery.
Artif. Organs 20, 1008-1016.

- [19] Brash, J. L., Scott, C. F., ten Hove, P., Wojciechowski, P. W., Colman, R. W. (1988):
Mechanism of transient adsorption of fibrinogen from plasma to solid surfaces:
Role of the contact and fibrinolytic systems.
Blood 71, 932-939.
- [20] Brash, J. L., ten Hove, P. (1989):
Transient adsorption of fibrinogen on foreign surfaces: Similar behavior in plasma
and whole blood.
J. Biomed. Mater. Res. 23, 157-169.
- [21] Cahalan, P., Verhoeven, M. (1996):
Die Carmeda-Beschichtung.
In: Lauterbach, G. (ed.): *Handbuch der Kardiotechnik*.
3. Auflage, Gustav Fischer Verlag Stuttgart, 93-99.
- [22] Calvette, J.J., Henschen, A., Gonzalez Rodriguez, J. (1989):
Complete localization of the intrachain disulphide bonds and the N-glycosylation
points in the alpha-subunit of human platelet glycoprotein IIb.
Biochem. J. 261, 561-568.
- [23] Carvalho, A. C., DeMarinis, S., Scott, C. F., Silver, L. D., Schmaier, A. H.,
Colman, R. W. (1988):
Activation of the contact system of plasma proteolysis in the adult respiratory
distress syndrome.
J. Lab. Clin. Med. 112, 270-277.
- [24] Chromogenix, Mölndal, Schweden.
Coatest Heparin. Laborvorschrift zur Bestimmung der Heparinkonzentration im
Plasma.
- [25] Cochrane, C. G., Revak, S. D. (1980):
Dissemination of contact activation in plasma by plasma kallikrein.
J. Exp. Med. 152, 608-619
- [26] Cochrane, C. G., Revak, S. D., Aikin, B. S., Wuepper, K. D. (1972):
The structural characteristics and activation of Hageman factor.
In: Lepow, I. H., Ward, P. A. (eds): *Inflammation: Mechanisms and control*.
Academic Press, New York, S. 119-138.
- [27] Cochrane, C. G., Revak, S. D., Wuepper, K. D. (1973):
Activation of Hageman factor in solid and fluid phase. A critical role of kallikrein.
J. Exp. Med. 138, 1564-1583.
- [28] Cochrane, C. G., Revak, S. D., Wuepper, K. D., Jonston, A., Morrison, C. D.,
Ulevitch, R. (1974):
Activation of Hageman factor and the kinin forming, intrinsic clotting and
fibrinolytic systems.
Adv. Biosci. 12, 237.

- [29] Colman, R.W. (1982):
Deficiencies of factor XII, prekallikrein and high-molecular-weight kininogen.
In: Colman, R. W., Hirsh, J., Marder, V. J., Salzman, E. W.: Hemostasis and thrombosis: basic principles and clinical practice; Lippincott, Philadelphia, 3-17.
- [30] Colman, R.W. (1986):
Regulation of the plasma-kallikrein-kininogensystem 1-10.
In: Grennbaum, L.M. (ed): Proceedings of the 4. international kinin congress.
Adv. Exp. Med. Biol. 198PtB.
- [31] Colman, R. W. (1995):
Hemostatic complications of cardiopulmonary bypass.
Am. J. Hematol. 48, 267-272
- [32] Cornelius, R. M., Brash, J. L. (1993):
Identification of proteins adsorbed to hemodialyser membranes from heparinized plasma.
J. Biomater. Sc. Polym. E. 4, 291-304.
- [33] Cortellaro, M., Boschetti, C., Fassio, G., Polli, E.E. (1979):
 β -Thromboglobulin (β -TG) and Heparin-Neutralizing Activity (HNA) in acute Myocardial Infarction (M.I.) patients. A controlled response to Sulfinpyrazone.
Thromb. Haemostasis 42, 486.
- [34] Davey, M.G., Lüscher, E.F. (1968):
Release reactions of human platelets induced by Thrombin and other agents.
Biochem. biophys. Acta. 165, 490.
- [35] Dawes, J., Smith, R.C., Pepper, D.S. (1978):
The release, distribution and clearance of human β -Thromboglobulin and Platelet Factor 4.
Thromb. Res. 12, 851.
- [36] Deklerk, J., Benzer, H., Haider, W., Pauser, G., Stellwag, F. (1977):
Beeinflussung des Kininogen-Kininsystems durch einen Kallikreinhemmer bei Operationen am offenen Herzen in extrakorporaler Zirkulation.
Anaesthesist 26, 639-643.
- [37] Denk, S., Eisen, V., Blümel, G. (1975):
Effect of organic kallikrein and blood coagulation, complement and esterolytic activity of plasmin
In: Haberland, G. L., Rohen, J. W., Blümel, G., Huber, P. (eds.): Kininogenase-Kallikrein III. 41-53, Schattauer Verlag, Stuttgart, New York.
- [38] Didisheim, D., Watson, J. (1989):
Thromboembolic complications of cardiovascular devices and artificial surfaces.
In: Kwaan, H., Samama, M.Y.: Clinical Thrombosis.
Boca Raton, CRC, 1989.

- [39] Duckert, F., (1983):
Blutgerinnung, Fibrinolyse, Thrombose.
In: Koller, F., Duckert, F.: Thrombose und Embolie, 3-13.
Schattauer Verlag, Stuttgart, New York.
- [40] Duswald, K.H. (1983):
Zur Pathobiochemie der Leukozyten-Elastase und ausgewählter Plasmaproteine
nach abdominalchirurgischen Eingriffen.
G-i-T Verlag, Ernst Giebeler, Darmstadt, 23-65.
- [41] Egbert, N., Hellgren, M. (1985):
Analyses of F XII, prekallikrein and kallikrein inhibitory capacity in patients with
laboratory signs of DIC.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 45, Suppl. 178, 25-29.
- [42] Egbring, R., Haveman, K. (1978):
Possible role of polymorphnuclear granulocyte proteasees in blood coagulation.
In: Haveman, K., Janoff, A. (eds.): Neutral proteases of human polymorphnuclear
leucozytes. Urban und Schwarzenberg Verlag.
- [43] Elgue, G., Blomback, M., Olsson, P., Riesenfeld, J. (1993):
On the mechanism of coagulation inhibition on surfaces with end point
immobilized heparin.
Thromb. Haemost. 70, 289-293.
- [44] Engelberg, H. (1984):
Heparin ant the atherosclerotic process.
Pharmacol. Rev. 36, 91-110.
- [45] Fosse, E., Moen, O., Johnson, E., Semb, G., Brockmeier, V., Mollnes, T. E.,
Fagerhol, M. K., Venge, P. (1994):
Reduced complement and granulocyte activation with heparin-coated
cardiopulmonary bypass.
Ann. Thorac. Surg. 58, 472-477.
- [46] Frey, E. K., Kraut, H. (1928):
Ein neues Kreislaufhormon und seine Wirkung.
Arch. Exp. Pathol. Pharmakol. 133, 1-56.
- [47] Friberger, P. (1982):
Chromogenic peptide substrates. Their use for the assay of factors in the
fibrinolytic and the plasma kallikrein-kinin-systems.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 42, Suppl. 162
- [48] Friberger, P., Eriksson, E., Gustavsson, S., Cleasson, G. (1979):
Determination of prekallikrein in plasma by means of a chromogenic tripeptide
substrate for plasma-kallikrein, 67-82
In: Fuji, S., Moriya, H., Suzuki, T., (eds): Kinins II: Biochemistry, pathophysiology
and clinical aspects. Plenum publishing corporation, New York.

- [49] Fuhrer, G., Gallimore, M. J., Heller, W., Hoffmeister, H.-E. (1990):
F XII, review article
Blut 61, 258-266.
- [50] Fuhrer, G., Heller, W., Junginger, W., Grober, O., Roth, K. (1989):
Components of the kallikrein-kinin-system in patients with ARDS.
Prog. Clin. Biol. Res. 308, 737-742.
- [51] Fujikawa, K., Heimark, R. L., Kurachi, K., Davie, E. W. (1980):
Activation of bovine factor XII (Hageman factor) by plasma kallikrein.
Biochem. 19, 1322-1330.
- [52] Fujikawa, K., McMullen, B., Heimark, R. L., Kurachi, K., Davie, E. W. (1980):
The role of factor XII (Hageman factor) in blood coagulation and a partial amino
acid sequence of human factor XII and its fragments.
In: Peeters, H.: Protides of the biological fluids, Proceedings of the twenty-eight
colloquium, Pergamon Press, Oxford, 345-348.
- [53] Fukami, M.H., Niewiarowski, S., Rucinski, B., Salganicoff, L. (1979):
Subcellular localization of human platelet Antiheparin Proteins.
Thromb. Res. 14, 433.
- [54] Gallimore, M. J., Amundsen, E., Laarsbraten, M. M., Lyngaas, K., Fareid, E.
(1979a):
Chromogenic peptide substrate assays for plasma inhibitors of plasma kallikrein.
Inhibitor of the major inhibitor.
Thromb. Haemostas. 42, 263
- [55] Gallimore, M. J., Amundsen, E., Laarsbraten, M. M., Lyngaas, K., Fareid, E.
(1979b):
Studies on plasma inhibitors of plasma kallikrein using chromogenic peptide
substrate assay.
Thromb. Res. 16, 695-703.
- [56] Gallimore, M. J., Friberger, P. (1982):
Simple chromogenic peptide substrate assays for determining prekallikrein,
kallikrein inhibition and kallikrein-like-activity in human plasma.
Thromb. Res 25, 293-298.
- [57] Ghebrehiwet, B., Silverberg, M., Kaplan A. P. (1981):
Activation of the pathway of complement by Hageman factor fragment.
J. Exp. Med. 153, 665-676.
- [58] Gigli, I., Mason, J. W., Colman, R. W., Austen, K. F. (1970):
Interaction of plasma kallikrein with the c1-inhibitor.
J. Immunol. 104, 574-581.
- [59] Glasmacher, B. (1995):
Werkstoff-induzierte Hämolyse.

- [60] Gluszko P., Rucinski B., Musial, J., Wenger, R.K., Schmaier, A.H., Colman, R.W., Edmunds Jr, L.H., Niewiarowski, S. (1987):
Fibrinogen receptors in platelet adhesion to surfaces of extracorporeal circuit.
Am. J. Physiol. 252:H, 615-621.
- [61] Gomsen, J., Kruse-Blinkenberg, H.O. (1979):
Heparin and its clinical use.
Scand. J. Haematol. Suppl. 34, 42-60.
- [62] Gott, V. L., Whiffen, J. D., Dutton, R. C. (1963):
Heparin bonding on colloidal graphite surfaces.
Science 142, 1297-1298.
- [63] Griffin, J.H., Bouma, B.N. (1987):
The contact phase of blood coagulation.
In: Bloom, A.L., Thomas, D.P.: *Haemostasis and Thrombosis*; 2.Ed.,
Churchill Livingstone, Edinburgh, England, 101-115.
- [64] Haberland, G. L. (1980):
Functions of the kallikrein-kinin-system outside the clotting cascade.
In: Peeters,H.: *Protides of the biological fluids, Proceedings of the twenty-eight colloquium*, Pergamon Press, Oxford, 205-208.
- [65] Harrenberg,J., Giese,Ch., Knödler, A., Ordu, Y., Zimmermann, R. (1980):
Toxikologie und klinische Pharmakologie niedermolekularer Heparine.
In: Schmitz-Huebner, U., Loo, J. v. d.: *Niedermolekulares Heparin, low-molecular- weight-heparin*; Schattauer, Stuttgart, New York, 1-9.
- [66] Hashimoto, K., Miyamoto, H., Suzuki, K., Horikoshi, S., Matsui, M., Arai, T., Kurosawa, H. (1992):
Evidence of organ damage after cardiopulmonary bypass.
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 104, 666-673.
- [67] Havel, M., Teufelsbauer, H., Knobl, P., Dalmatiner, R., Jaksch, P., Zwolfer, W., Muller, M., Vukovich, T. (1991):
Effects of intraoperative aprotinin administration on postoperative bleeding in patients undergoing cardiopulmonary bypass operation.
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 101, 968-972.
- [68] Henne, D. (1975):
Endogene und exogene Hyperheparinämie.
In: Begemann, H. (Hrsg.): *Klinische Hämatologie*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 729-730.
- [69] Heller,W., Wendel,H.P., Klaffschenkel, R., Hoffmeister, H.E.:
Studienmodell über die Hämokompatibilität von Biomaterialien, speziell von Hollowfiber- und Silikonmembranen

35. Jahrestagung der Gesellschaft für Thrombose- und Hämostaseforschung,
Göttingen, 1991.

- [70] Hind, C. R. K., Griffin, J. F., Pack, S., Latchman, Y. E., Drake, H. f., Jones, H. M., Brostoff, J., Dormandy, T. L., Treasure, T. (1988):
Effect of cardiopulmonary bypass on circulating concentrations of leucozyte elastase and free radical activity.
Cardiovasc. Res. 22, 37-41.
- [71] Hirsh, J., Genton, E., Rusell, H. (1981):
Venous thrombembolism.
Academic Press, London, 155-183.
- [72] Hörl, W. H., Jochum, M., Heidland, A., Fritz, H. (1983)
Release of granulocyte proteinases during hemodialysis.
Am. J. Nephrol. 3, 213-227.
- [73] Hörl, W. H., Schäfer, R. M., Heidland, A. (1985):
Effect of different dialyzers on proteinases and proteinase-inhibitors during hemodialysis.
Am. J. Nephrol. 5, 320-325.
- [74] Hofbrand, A.V., Pettit, J.E. (1986):
Grundlagen der Hämatologie.
Steinkopfverlag, Darmstadt.
- [75] Hogevoid, H. E., Moen, O., Fosse, E., Venge, P., Braten, J., Andersson, C. (1997):
Effects of heparin coating on the expression of CD11b, CD11c and CD62L by leucocytes in extracorporeal circulation in vitro.
Perfusion 12, 9-20.
- [76] Hojima, Y., Tankersley, D. L., Miller-Anderson, M., Pierce, J. V., Pisano, J. J. (1980):
Enzymatic properties of human Hageman factor fragment with plasma kallikrein and synthetic substrates.
Thromb. Res. 18, 417-430.
- [77] Hollenberg, M., Pruett, R., Thal, A. (1963):
Vasoactive substances liberated by prolonged bubble oxygenation.
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 45, 402-411.
- [78] Holmer, E., Kurachi, K., Söderström, G. (1981):
The molecular weight dependence of the enhancing effect of heparin on the inhibition of thrombin, Factor Xa, Factor IXa, Factor XIa, Factor XIIa and kallikrein by antithrombin.
Biochem. J. 193, 395-400.
- [79] Horbett, T.A. (1993):
Principles underlying the role of adsorbed plasma proteins in blood interactions

- with foreign materials.
Cardiovasc. Pathol., 137-148.
- [80] Howell, W.H., Holt, E. (1918):
Two new factors in blood coagulation- heparin and pro-antithrombin.
Am.J.Physiol. 47, 328-341.
- [81] Irvine, L., Sundaram, S., Courtney, J.M., Taggart, D.P., Weathley, D.J., Lowe, G.D.O. (1991):
Monitoring of FXII activity and granulocyte elastase during cardiopulmonary bypass.
ASAIO Trans. 37, 569-571.
- [82] Janoff, A. (1985):
Elastase in tissue injury.
Ann. Rev. Med. 36, 207-216.
- [83] Jansen, P. G., te Velthuis, H., Huybregts, R. A., Paulus, R., Bulder, E. R., van der Spoel, H. I., Bezemer, P. D., Slaats, E. H., Eijnsman, L., Wildevuur, C. R. H. (1995):
Reduced complement activation and improved postoperative performance after cardiopulmonary bypass with heparin-coated circuits.
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 110, 829-834.
- [84] Kao, W.J., Sapatnekar, S., Hiltner, A, Anderson, J.M. (1996):
Complement-mediated leukocyte adhesion on poly(etherurethane ureas) under shear stress in vitro.
J Biomed. Mater. Res. 32, 99-109.
- [85] Kaplan, A. P., Austen, K. F. (1972):
The fibrinolytic pathway of human plasma. Isolation and characterization of the plasminogen proactivator.
J. Exp. Med. 136, 1378-1393.
- [86] Kaplan, P.D., Kui,C., Pierce, J.A. (1973):
The induction of emphysema with elastase, the evolution of the lesion and the influence of serum.
J. Lab. Clin. Med. 82, 34-35.
- [87] Kaplan, K.L., Broekman, M.J., Chernoff, A., Lesznik, G.R., Drillings, M. (1979):
Platelet α -Granule proteins: Studies on release and subcellular localization.
Blood 53, 604.
- [88] Kerbiriou, D.M., Bouma, B.M., Griffin, J.H. (1980):
Immunochemical studies of human high molecular weight kininogen and of its complexes with plasma prekallikrein.
J.Biol.Chem. 255, 3952-3958.

- [89] Khan, M.M.H., Kunapuli, S.P., Lin, Y.Z., Majluf-Cruz, A., DeLaCadena, R.A., Cooper, S.L., Colman, R.W. (1998):
Three non-contiguous peptides comprise binding sites on high-molecular-weight kininogen to neutrophils.
Am. J. Phys. Heart. Circ. Phys. 44, H145-H150.
- [90] Kleniewski, J., Donaldson, V. (1988):
Granulocyte elastase cleaves human high molecular weight kininogen and destroys its clotting-promoting activity.
J. Exp. Med. 167, 1895-1907.
- [91] Korn, R. L., Fisher, C. A., Livingston, E. R., Stenach, N., Fishman, S. J., Jeevanadam, V., Addonizio, V. P. (1996):
The effects of Carmeda bioactive surface on human blood components during simulated extracorporeal circulation.
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 111, 1073-1084.
- [92] Kreutzig, T. (1993):
Biochemie, 7. Auflage.
Jungjohann Verlagsgesellschaft, 361-364.
- [93] Krizan, Z. (1989):
Modelluntersuchungen zur Wirkungsweise eines Heparinfragments in der Herz-Lungen-Maschine.
Medizinische Dissertation, Universität Tübingen.
- [94] Kuitunen, A. H., Heikkila, L. J., Salmenpera, M. T. (1997):
Cardiopulmonary bypass with heparin coated circuits and reduced systemic anticoagulation.
Ann. Thorac. Surg. 63, 438-444.
- [95] Kutsal, A., Ersoy, Ü., Ersoy, F., Yeniay, I., Bakkaloglu, A., Bozer, Y. (1989):
Complement activation during cardiopulmonary bypass.
J. Cardiovasc. Surg. 30, 359-363.
- [96] Larm, O., Larsson, R., Olsson, P. (1983):
A new non-thrombogenic surface prepared by selective covalent binding of heparin via a modified reducing terminal residue.
Biomater. Med. Devices Artif. Organs 11, 161-173.
- [97] Lechler, E.:
Haemorrhagische Diathesen
In: Classen, Diehl, Kochsiek (Hrsg.): Innere Medizin (1991).
- [98] Ludlam, C.A. (1979):
Evidence for the platelet specificity of β -Thromboglobulin and studies on its plasma concentration in healthy individuals.
Br. J. Haematol. 41, 271.

- [99] Ludlam, C.A., Moore, S., Bolton, A.E., et al. (1975):
The release of a human platelet specific protein measured by a radioimmunoassay.
Thromb. Res. 6, 543.
- [100] Lundblad, R., Moen, O., Fosse, E. (1997):
Endothelin-1 and neutrophil activation during heparin-coated cardiopulmonary
bypass.
Ann. Thorac. Surg. 63, 1361-1367.
- [101] Mandle, R. J., Kaplan, A. P. (1982):
Human plasma prekallikrein.
In: Seligsohn, D.: CRC handbook series in clinical laboratory science.
Section I: Hematology. Volume III, CRC Press, Boca Raton, USA, 171-178.
- [102] Markwardt, F. (1982):
Pharmakologie des Heparins.
J. Cardiovasc. Pharmacol. 4, 171-181.
- [103] McConnel, D. J. (1972):
Inhibitors of kallikrein in human plasma.
J. Clin. Invest. 51.
- [104] McLean, J. (1959):
The discovery of heparin.
Circulation 19, 75-78.
- [105] Merck, Darmstadt, Deutschland.
PMN-Elastase, Merck Immunoassay, Laborvorschrift.
- [106] Moen, O., Fosse, E., Dregelid, E., Brockmeier, V., Andersson, C., Hogasen,
K., Venge, P., Mollnes, T. E., Kierulf, P. (1996):
Centrifugal pump and heparin coating improves cardiopulmonary bypass
biocompatibility.
Ann. Thorac. Surg. 62, 1134-1140.
- [107] Moen, O., Hogasen, K., Fosse, E., Dregelid, E., Brockmeier, V., Venge, P.,
Harboe, M., Mollnes, T. E. (1997):
Attenuation of changes in leukocyte surface markers and complement activation
with heparin coated cardiopulmonary bypass.
Ann. Thorac. Surg. 63, 105-111.
- [108] Moore, S., Pepper, D.S., Cash, J.D. (1975):
The isolation and characterisation of a platelet-specific- β -globulin (β -
Thromboglobulin) and the detection of Antiurokinase and Antiplasmin released
from Thrombin-aggregated washed human platelets.
Biochem. biophys. Acta 379, 360.
- [109] Müller, E. (1991):
Adult respiratory distress syndrome (ARDS): Activation of complement,
coagulation and fibrinolytic systems.

Biomedical Progress 4, 3-6.

- [110] Müller, R.R., Reinecke, W., Lange, D.E. (1986):
Bestimmung der Elastase im menschlichen Parodontaltaschenexsudat und ihre Bedeutung als Entzündungsparameter.
Dtsch. Zahnärztl. Z. 41, 32-35.
- [111] Müller-Berghaus, G. (1988):
Physiologie der Blutgerinnung und Fibrinolyse
In: Müller-Eckhard, C.: Transfusionsmedizin
Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 53-78.
- [112] Mutschler, E. (1986):
Heparin, Heparinoide.
In: Mutschler, E.: Arzneimittelwirkungen, Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie, 5. Auflage, Wiss. Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 109, 403-404.
- [113] Nagoaka, H., Katori, M. (1975):
Inhibition of kinin formation by a kallikrein inhibitor during extracorporeal circulation in openheart surgery.
Circulation 52, 325-332.
- [114] Neumann, S., Gunzer, G., Hennrich, N., Lang, H. (1984):
„PMN Elastase assay“: Enzyme immunoassay for human polymorphonuclear elastase complexed with α 1-proteinase-inhibitor.
J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 22, 693-697.
- [115] Neumann, S., Jochum, M. (1984):
Elastase- α 1-proteinase inhibitor complex.
In: Bermeyer, H.-U.: Methods of enzymatic Analysis, 3. Aufl., Verlag Chemie, Weinheim, 184-195.
- [116] Neumann, S., Lang, H. (1989):
Entzündung.
In: Greiling, H., Gressner, A. M.: Lehrbuch der klinischen Chemie und Pathobiochemie, 2. Aufl., Schattauer, Stuttgart, New York, 1044-1048.
- [117] Neumeier, D., Vogt, W. (1978):
Erste Erfahrungen mit einem kommerziellen Radioimmunoassay zur Bestimmung von β -Thromboglobulin.
Fresenius Z. Anal.Chem. 290, 171.
- [118] Nilson, T. (1983):
On the interaction between human plasma kallikrein and C1-esterase inhibitor.
Thromb. Haemostas. 49, 193-195.
- [119] Nilsson, L., Peterson, C., Venge, P., Borowiec, J. W., Thelin, S. (1995):
Eosinophil granule proteins in cardiopulmonary bypass with and without heparin coating.

Ann. Thorac. Surg. 59, 713-716.

- [120] Nilsson, L., Storm, K.E., Thelin, S., Bagge, L., Hultman, J., Thorelius, J., Nilsson, U. (1990):
Heparin-coated equipment reduces complement activation during cardiopulmonary bypass in pig.
Artif. Organs 14,46-48.
- [121] Ohlsson, K., Olsson, I. (1974):
The neutral proteases of human granulocytes. Isolation and characterisation of granulocyte elastase.
Eur. J. Biochem. 42, 519.
- [122] Palatianos, G.M., Dewanjee, K., Smith, W., Novak, S., Hsu, L.-C., Kapadvanjwala, M., Sfakianakis, G.N., Kaiser, G.A. (1991):
Platelet preservation during cardiopulmonary bypass with Iloprost and Duraflo-II heparin coated surfaces.
ASAIO Trans. 37,620-622.
- [123] Petrides, P. E. (1988):
Blut.
In: Löffler, G., Petrides, P. E.: Physiologie des Menschen, 4. Auflage, 781-863.
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Paris, London, Tokyo.
- [124] Pilz, G., Kaab, S., Kreuzer, E., Werdan, K. (1994):
Evaluation of definitions and parameters for sepsis assessment in patients after cardiac surgery.
Infection 22, 8-17.
- [125] Pisano, J. J. (1975):
Chemistry and biology of the kallikrein-Kinin-system. 199-222.
In: Reich, E., Rifkin, D. B., Shaw, E. (eds.): Proteolysis and biological control.
Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York.
- [126] Plow, E.F. (1982):
Leukocyte elastase release during blood coagulation.
J. Clin. Invest. 69, 564-572.
- [127] Plow, E. F., Plescia, J. (1988):
Neutrophil secretion during blood coagulation: Evidence for a prekallikrein independent pathway.
Thromb. Haemostas. 59, 360-363.
- [128] Preissner, K. T., Müller- Berghaus, G. (1986)
Molekulare Wechselwirkungen zwischen Komplement-, Gerinnungs- und Fibrinolyse-system.
Haemostaseologie 6, 67-81.
- [129] Pschyrembel, W. (1994):

Klinisches Wörterbuch.

257. Auflage, de Gruyter Verlag, Berlin, New York

- [130] Ranucci, M., Cirri, S., Conti, D., Ditta, A., Boncilli, A., Menicanti, L. (1996):
Beneficial effects of Duraflo II heparin coated circuits on postperfusion lung dysfunction.
Ann. Thorac. Surg. 61, 76-81.
- [131] Rapp, S. (1989):
Vergleichende Modelluntersuchungen zur Anwendung von hoch- und niedermolekularem Heparin.
Medizinische Dissertation, Universität Tübingen.
- [132] Redmond, J. M., Gillinov, A. M., Stuart, R. S., Zehr, K. J., Winkelstein, J. A., Herskowitz, A., Cameron, D. E., Baumgartner, W. A. (1993):
Heparin-coated bypass circuits reduce pulmonary injury.
Ann. Thorac. Surg. 56, 474-479.
- [133] Revak, S. D., Cochrane, C. G. (1976):
The relationship of structure and function in human hageman-factor.
The association of enzymatic bending and activities with seperate regions of the molecule.
J. Clin. Invest. 57, 852-860.
- [134] Revak, S. D., Cochrane, C. G., Bouma, B. N., Griffin, J. H. (1978):
Surface and fluid phase activities of two forms activated Hageman factor produced during contact activation of human plasma.
J. Exp. Med. 147, 719.
- [135] Rosenberg, R. D. (1983):
Biochemische Grundlagen und Funktion des AT III als Serin Protease Inhibitor und Heparin Cofaktor.
In: Wenzel, E., Neuhaus, K., Rosenberg, R. D.: Antithrombin III, Biochemie, Funktion, Nachweis und klinische Bedeutung; Ann.Univ. Sarav. Med. Suppl. 3, 11-13.
- [136] Rybicki, J., Breton, L. G. (1983):
A comparison of the abilities to activate plasminogen.
Thromb. Res. 29, 407-414.
- [137] Salmon, J., Bounameaux, Y. (1958):
Etudes des antigenes plaguettaires et, en particulier, du fibrinogene.
Thromb. Diath. haemorrh. 2, 93.
- [138] Sandholm, L. (1986):
Proteases and their inhibitors in chronic inflammatory periodontal disease.
J. Clin. Periodontol. 13, 19-26.
- [139] Santerre, J. P., ten Hove, P., Brash, J. L. (1992):

Polyurethanes bearing pendant amino acids: Fibrinogen adsorption and coagulant properties.

J. Biomed. Mater. Res. 26, 1003-1018.

- [140] Schmidt, W., Egbring, R., Havemann, K. (1975):
Effect of elastase-like and chymotrypsin-like neutral proteinases from human granulocytes on isolated clotting factors. 315-326.
- [141] Seligson, U., Osterud, B., Brown, S. F., Griffin, J. H., Rapaport, S. I. (1979):
Activation of human factor VII in plasma and in purified systems: Roles of activated factor IX, kallikrein and activated factor XII.
J. Clin. Invest. 64, 1056-1065.
- [142] Seligson, U., Osterud, B., Griffin, J. H., Rapaport, S. I. (1978):
Evidence for the participation of both activated factor XII and activated factor XI in cold-promoted activation of factor VII.
Thrombosis Res. 13, 1049-1056.
- [143] Shigemitsu, O., Hadama, T., Takasaki, H., Mori, Y., Kimura, T., Miyamoto, S., Sako, H., Soeda, T., Kawawaki, Y., Uchida, Y. (1994):
Biocompatibility of a heparin-bonded membrane oxygenator (Carmeda MAXIMA) during the first 90 minutes of cardiopulmonary bypass: clinical comparison with the conventional system.
Artif Organs 18, 936-941.
- [144] Shotton, D. M. (1970):
Elastase.
Methods Enzymol. 19, 113-140.
- [145] Silbernagl, S., Despopoulos, A. (1983):
Taschenatlas der Physiologie, 2. Auflage.
Thieme Verlag, Stuttgart, New York.
- [146] Stanford, M.F., Munoz, P.C., Vroman, L. (1983):
Platelets adhere where flow has left fibrinogen on glass.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 416, 504-512.
- [147] Steinberg, B. M., Grossi, E. A., Schwartz, D. S., McLoughlin, D. E., Aguinaga, G.M., Bizekis, C., Greenwald, J., Flisser, A., Spencer, F. C., Galloway, A. C., et al (1995):
Heparin bonding of bypass circuits reduces cytokine release during cardiopulmonary bypass.
Ann. Thorac. Surg. 60, 525-529.
- [148] Stenach, N., Korn, R.L., Fisher, C.A., Jeevanandam, V., Addonizio, P. (1992):
The effects of heparin bound surface modification (CBAS) on human platelet alterations during simulated extracorporeal circulation.
The J. of Extra-corporeal Technology 24, 97-102.

- [149] Tans, G., Rosing, J., Berrettini, M., Lammle, B., Griffin, J. (1987b)
Autoactivation of human plasma prekallikrein.
J. Biol. Chem. 262, 11308-11314.
- [150] Taylor, K. M: (1996):
SIRS-the systemic inflammatory response syndrome after cardiac operations (editorial; comment).
Ann. Thorac. Surg. 61, 1607-1608.
- [151] te Velthuis, H., Jansen, P. G., Hack, C. E., Eijssman, L., Widevuur, C. R. H. (1996):
Specific complement inhibition with heparin-coated extracorporeal circuits.
Ann. Thorac. Surg. 61, 1153-1157.
- [152] te Velthuis, H., Baufreton, C., Jansen, P. G., Thijs, C. M., Hack, C. E., Sturk, A., Wildevuur, C. R., Loisanse, D. Y. (1997):
Heparin coating of extracorporeal circuits inhibits contact activation during cardiac operations.
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 114, 117-122.
- [153] Thelin, S., Bagge, L., Hultman, J., Borowiec, J., Nilsson, L., Thorelius, J. (1991):
Heparin-coated cardiopulmonary bypass circuits reduce blood cell trauma.
Eur. J. Cardio-thorac. Surg. 5, 486-491.
- [154] Till, G. O., Ward, P. A. (1985):
Oxygen radicals in complement and neutrophil-mediated acute lung injury.
J. Free. Radic. Biol. Med. 1, 163-168.
- [155] Travis, J. (1988):
Structure, function and control of neutrophil proteinases.
Am. J. Med. 84, 37-42.
- [156] Travis, J., Salvesen, G. (1983a):
Control of coagulation and fibrinolysis by plasma proteinase inhibitors.
Behring Inst. Mitt. 73, 56-65.
- [157] Travis, J., Salvesen, G. (1983b):
Human plasma proteinase inhibitors.
Ann. Rev. Biochem. 52, 655-709.
- [158] Tsai, W.B., Grunkemeier J.M., Horbett, T. A. (1999):
Human plasma fibrinogen adsorption and platelet adhesion to polystyrene.
J. Biomed. Mater. Res. 44, 130-139.
- [159] Tschaut, Rudolf J. (ed.):
Extrakorporale Zirkulation in Theorie und Praxis.
Pabst-Verlag.
- [160] Tzeng, D.Y., Deuel, T.F., Huang, J.S., Denion, R.M., Boxer, L.A., Baechner,

- R.L. (1984):
Platelet-derived growth factor promotes polymorphonuclear leukocyte activation.
Blood 64, 1123.
- [161] Unicorn Diagnostics Ltd., London, Großbritannien.
Chromogenic substrate assay for FXII-like-activity in human plasma,
Laborvorschrift.
- [162] Unicorn Diagnostics Ltd., London, Großbritannien.
Chromogenic substrate assay for kallikrein-like-activity in human plasma,
Laborvorschrift.
- [163] Velasco, F., Torres, A., Guerro, A., Andres, P., Guerro, R., Aljama, P., Alvarez, F. (1986):
Behaviour of the contact phase of blood coagulation in the adult respiratory distress syndrome (ARDS).
Thromb. Haemost. 55, 357-360.
- [164] Vennerod, A. M., Laake, K. (1975).
Inhibition of purified plasma kallikrein by antithrombin III and heparin.
Thromb. Res. 7, 223.
- [165] Verstraete, M. (1980):
Potential and problems with the clinical use of heparin.
In: Verstraete, M., Machin, S.J.: Clinical usage of heparin:
Scand. J. Haematol. Suppl. 36, 1-24.
- [166] Videm, V., Svennevig, J. L., Fosse, E., Semb, G., Osterud, A., Mollnes, T. E., Nielsen, H. (1992):
Reduced complement activation with heparin-coated oxygenators and tubings in cardiopulmonary bypass operations.
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 103, 806-813.
- [167] von Segesser, L. K., Turina, M. (1989):
Cardiopulmonary bypass without systemic heparinization. Performance of heparin-coated oxygenators in comparison with classic membrane and bubble oxygenators.
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 98, 386-396.
- [168] von Segesser, L. K., Weiss, B. M., Hanseler, E., Bisang, B., Leskosek, B., von Felten, A., Turina, M. (1992):
Improved biocompatibility of heparin surface-coated ventricular assist devices.
Int. J. Artif. Organs 15, 301-306.
- [169] von Segesser, L. K., Weiss, B. M., Pasic, M., Garcia, E., Turina, M. I. (1994b):
Risk and benefit of low systemic heparinization during open heart operations.
Ann. Thorac. Surg. 58, 391-397.
- [170] von Segesser, L. K., Weiss, B. M., Pasic, M., Leskosek, B., von Felten, A., Pei,

- P., Turina, M. (1991):
Experimental evaluation of heparin-coated cardiopulmonary-bypass equipment with low systemic heparinization and high-dose aprotinin.
Thorac. Cardiovasc. Surg. 39, 251-256.
- [171] Vroman, L. (1983):
Possible relationships and interactions among events in clotting, platelet adhesion immune surface reactions and granulocyte adhesion.
J. Theor. Biol. 105, 541-543.
- [172] Vroman, L. (1987): The Importance of surfaces in contact phase reactions.
Semin. Thromb. Hemost. 13, 79-85.
- [173] Vroman, L., Adams, A. L., Fischer, G. C., Munoz, P. C. (1980):
Interaction of high molecular weight kininogen, factor XII and fibrinogen in plasma at interfaces.
Blood 55, 156-159.
- [174] Vroman, L., Adams, A. L. (1986):
Rapid identification of proteins on flat surfaces, using antibody-coated metal oxide suspensions.
J. Immunol. Methods 93, 213-216.
- [175] Vroman, L. (1987):
Methods of investigating protein interactions on artificial and natural surfaces.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 516, 300-305.
- [176] Vroman, L. (1988):
The life of an artificial device in contact with blood: initial events and their effect on its final state.
Bull. N.Y. Acad. Med. 64, 352-357.
- [177] Wachtfogel, Y. T., Pixley, R. A., Kucich, U., Abrams, W., Weinbaum, G., Schapira, M., Colman, R. W. (1986):
Purified plasma factor XIIa aggregates human neutrophils and causes degranulation.
Blood 67, 1731-1737.
- [178] Wagner, W. R., Johnson, P. C., Thompson, K. A., Marrone, G. C. (1994):
Heparin-coated cardiopulmonary bypass circuits: hemostatic alterations and postoperative blood loss.
Ann. Thorac. Surg. 58, 734-740.
- [179] Weber, N., Wendel, H.P., Ziemer, G. (2002):
Hemocompatibility of heparin-coated surfaces and the role of selective plasma protein adsorption.
Biomaterials. 23, 429-439.
- [180] Weisel, J.W., Staufacher, C.V., Bullitt, E., Cohen, C. (1985):

A model for fibrinogen: Domains and sequence.
Science 230, 1388-1391.

- [181] Wendel, H. P.
Heparinbeschichtete Systeme.
In: Extrakorporale Zirkulation in Theorie und Praxis. Tschaut, R. J. (ed.), Pabst Verlag.
- [182] Wendel, H. P., Heller, W., Galimore, M. J., Hoffmeister, H. E. (1994):
Heparin-coated oxygenators significantly reduce contact system activation in an ex-vivo cardiopulmonary bypass model.
Blood Coagul. Fibrinolysis 5, 673-678.
- [183] Wendel, H.P., Klaffschenkel, R., Heller, W., Hoffmeister, H.-E. (1992):
Kardiopulmonaler Bypass unter Verzicht von Antikoagulantien?- Ex-vivo-Modelluntersuchungen mit Verwendung eines heparinbeschichteten Membran-oxygenators.
In: Fraedrich, G., von Segesser, L., Hasse, J., Schlosser, V.: Besondere Aspekte der extrakorporalen Zirkulation.
Steinkopff, Darmstadt, 47-52.
- [184] Wendel, H.P., Weber, N., Ziemer, G. (2000):
Vergleichende Untersuchungen zum Adsorptionsverhalten von Plasmaproteinen an heparinbeschichteten Oberflächen.
Biomed. Technik 45, 282-287.
- [185] Witt, I. (1987):
Hämostase- und Fibrinolysesystem.
In: Greiling, H., Gressner, A. M.: Lehrbuch der klinischen Chemie und Pathbiochemie, 715-764.
Schattauer Verlag, Stuttgart, New York.
- [186] Wuepper, K. D., Miller, D. R., Lacombe, M. J. (1975):
Flaujeac Trait- Deficiency of human plasma kininogen.
J. Clin. Invest. 56, 1663-1672.
- [187] Yamada, H., Kudoh, I., Hirose, Y., Toyoshima, M., Abe, H., Kurahasi, K. (1996):
Heparin-coated circuits reduce the formation of TNF alpha during cardiopulmonary bypass.
Acta. Anaesthesiol. Scand. 40, 311-317.
- [188] Zahavi, J., Cella, G., Dubiel, M., Kakkar, V.V. (1978):
The variability of human plasma β -Thromboglobulin in healthy individuals.
Thromb. Haemostasis 40, 565.
- [189] Zimmermann, M. (1979):
Role of proteinases from leukocytes in inflammation.
In: Holzer, H., Tschesche, H.: Biological functions of proteinases, Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 186-195.

- [190] Zimmermann, R. E., Menzel, W., Druen, B., Dittrich, H. (1978):
Untersuchungen der Hämostase und Fibrinolyse vor und nach extrakorporaler
Zirkulation.
Herz-Kreislauf 10/ 2, 77-83.
- [191] Zimmermann, T.S., Müller-Eberhard, H.J. (1971):
Blood coagulation initiation by a complement mediated pathway.
J. Exp. Med. 134, 1601-1607.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. G. Ziemer für die Überlassung des Themas. Bei Herrn Dr. H. P. Wendel bedanke ich mich herzlich für die stets freundliche und geduldige Betreuung sowie für die wertvollen Ratschläge und Anregungen während der Bearbeitung des Themas und für die konstruktive Durchsicht des Manuskriptes.

Desweiteren danke ich den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Forschungslabors der Abteilung Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie in Tübingen für die stets freundliche und hilfsbereite Zusammenarbeit.

Ohne die Unterstützung durch die Mitarbeiter des medizinischen Rechenzentrums wäre die Erstellung der Statistik nicht möglich gewesen. Auch Ihnen gilt mein besonderer Dank.

Lebenslauf

Name: Kuder, Jochen
Geburtsdatum: 26. Dezember 1973 in Reutlingen
Staatsangehörigkeit: deutsch

Schulbildung

9/80 - 7/84 Grundschule Bempflingen
9/84 - 7/90 Schönbein-Realschule Metzingen, Mittlere Reife
9/90 - 5/93 Wirtschaftsgymnasium der Theodor-Heuss-Schule Reutlingen,
Allgemeine Hochschulreife

Hochschulausbildung

10/93 - 11/01 Studium der Humanmedizin an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

09/95 Ärztliche Vorprüfung
03/97 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
09/00 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
10/00 - 09/01 Praktisches Jahr am Marienhospital Stuttgart
(Innere Medizin, Plastische Chirurgie, Chirurgie)
11/00 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

10/95 - 11/99 Studium der Zahnmedizin an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

10/96 Zahnärztliche Vorprüfung
11/99 Zahnärztliche Prüfung, Approbation als Zahnarzt

01/02 – 06/03 Anstellung als Arzt im Praktikum bei Prof. Dr. Dr. K. Wangerin in der Abteilung für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie am Marienhospital in Stuttgart

08/02 Anstellung als Assistenzarzt bei Prof. Dr. Dr. E.-D. Voy in der Abteilung für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie im Evangelischen Landeskrankenhaus in Hattingen/Ruhr

Seit 09/02 Anstellung als Assistenzarzt bei Prof. Dr. Dr. K. Wangerin in der Abteilung für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie am Marienhospital in Stuttgart