

**Aus der Universitätsklinik
für Thorax-, Herz- und Gefäß-Chirurgie Tübingen**

Ärztlicher Direktor: Professor Dr. Dr. h.c. G. Ziemer

**Hämokompatibilität
von
bioaktiven und biopassiven Oberflächenbeschichtungen**

**INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde**

**der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

**vorgelegt von
Kristina Jennifer Elisabeth Sperl**

**aus
Tübingen**

2005

Dekan: Professor Dr. C. D. Claussen

1. Berichterstatter: Professor Dr. Dr. h.c. G. Ziemer

2. Berichterstatter: Professor Dr. J. Geis-Gerstorfer

Für meine Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	1
1.	Biokompatibilität von künstlichen Oberflächen	3
2.	Bioaktive Oberflächenbeschichtung	4
2.1	Verbesserung der Biokompatibilität durch Heparin	4
2.1.1	Heparin	4
2.1.2	Heparinbeschichtung	7
2.1.3	Jostra Bioline Coating	7
3.	Biopassive Oberflächenbeschichtung	8
3.1	Jostra Safeline	8
4.	Hämostase	8
4.1	Das Endothel	8
4.2	Thrombozyten	10
4.2.1	β -Thromboglobulin	12
4.3	Plasmatische Gerinnung	13
4.4	Inhibition	15
4.4.1	Antithrombin III	15
4.4.1.1	Thrombin-Antithrombin-III-Komplex (TAT)	16
4.5	Fibrinolyse	16
5.	Hämolyse	17
6.	Das inflammatorische System	18
6.1	Das Komplementsystem	18
6.1.1	SC5b-9 (TCC)	20
6.2	Leukozyten	21
6.2.1	Granulozyten	22
6.2.1.1	PMN-Elastase	24
6.2.2	Monozyten	25
6.2.3	Lymphozyten	26
7.	Fragestellung und Ziele der Arbeit	27
II.	MATERIAL UND METHODEN	28
1.	Herz-Lungen-Maschine	28
2.	Versuchsdurchführung	30
3.	Blutzusätze	32
4.	Testmethoden	35
4.1	Leukozyten und Thrombozyten	35
4.2	β -Thromboglobulin	37

4.3	Thrombin-Antithrombin-III-Komplex (TAT)	39
4.4	Freies Hämoglobin – Hämolyse –	41
4.5	PMN-Elastase	42
4.6	SC5b-9 (TCC)	44
5.	Statistische Auswertung der Ergebnisse	47
5.1	Hämatokrit-Korrektur	47
5.2	Statistischer Vergleich	47
III.	ERGEBNISSE	48
1.	Thrombozyten	48
2.	β-Thromboglobulin	54
3.	Thrombin-Antithrombin-III-Komplex (TAT)	61
4.	Hämolyse	66
5.	Leukozyten	72
6.	PMN-Elastase	78
7.	SC5b-9 (TCC)	85
IV.	DISKUSSION	91
1.	Thrombozyten	91
2.	β-Thromboglobulin	93
3.	Thrombin-Antithrombin-III-Komplex (TAT)	94
4.	Hämolyse	96
5.	Leukozyten	98
6.	PMN-Elastase	100
7.	SC5b-9 (TCC)	102
V.	ZUSAMMENFASSUNG	105
VI.	LITERATURVERZEICHNIS	108

I. EINLEITUNG

Nach 20-jähriger Forschung kam die Herz-Lungen-Maschine unter der Leitung von J.H. Gibbon erstmals am 5. Mai 1953 erfolgreich zur Anwendung. Dieser Durchbruch in der Entwicklung der extrakorporalen Zirkulation führte in den letzten 50 Jahren zu einer kontinuierlichen Verbesserung nicht nur der Technik, sondern auch der verwendeten Materialien. Mittlerweile stellt der kardiopulmonale Bypass ein routiniertes Verfahren dar, das vor allem im Rahmen der Koronar- und Herzklappenchirurgie, aber auch zur Korrektur kongenitaler Vitien eingesetzt wird. {54}{65}{96}{117}

Die Herz-Lungen-Maschine ermöglicht durch die Imitation der Herz- und Lungenfunktion Operationen am offenen und stillgelegten Herzen. Dabei wird die Pumpleistung des Herzens von einer Rollerpumpe übernommen und der Gasaustausch der Lunge durch den Oxygenator gewährleistet. Die früher verwendeten Film- und Bubble-Oxygenatoren wurden in den 70er Jahren durch den Membran-Oxygenator ersetzt, der aufgrund der Trennung von Blut- und Gasphase über eine mikroporöse Hohlfasermembran die natürliche Situation der Lunge weitgehend simuliert und das durch die Bubble-Oxygenatoren verursachte Auftreten von Gasembolien deutlich reduziert. {19}{38}{55}{114}

Bis heute ist es jedoch nicht gelungen, ein antithrombogenes, hämokompatibles Material zu entwickeln, das in der Lage ist, den sich am natürlichen Endothel im Gleichgewicht befindenden Prozess der Gerinnungsaktivierung und –inhibition zu simulieren. Der Kontakt des Blutes mit der nichtendothelialen Oberfläche des extrakorporalen Kreislaufsystems führt zu einer Aktivierung des Gerinnungssystems, der Fibrinolyse sowie der Komplementkaskade und übt zudem einen stimulierenden Einfluss auf die Blutzellen (Leukozyten, Thrombozyten) sowie die Zellen des Gefäßendothels aus. Als Folge dieser durch die eingesetzten Fremdoberflächen induzierten Aktivierungsmechanismen kann postoperativ das sogenannte Post-Perfusions-Syndrom auftreten, das im schlimmsten Fall zur systemischen Entzündungsreaktion (SIRS), zum akuten Lungenversagen (ARDS), zu Multiorganversagen (MOF) oder zu einer Sepsis führen kann. Des Weiteren können durch den Einsatz der Herz-Lungen-Maschine Wasser- und Elektrolytstörungen, eine

Hyperglykämie, Nierenfunktionsstörungen sowie neurologische Komplikationen hervorgerufen werden.

Da der Einsatz der Herz-Lungen-Maschine einerseits immer jüngere Kinder und andererseits immer ältere Erwachsene mit multiplen Grunderkrankungen betrifft, besteht eine erhöhte Wahrscheinlichkeit für das Auftreten dieser Abwehrreaktionen infolge des kardiopulmonalen Bypasses. {19}{42}{53}{117}{118}

Der schädigende Einfluss der extrakorporalen Zirkulation auf die Körperfunktionen beruht jedoch nicht allein auf der Interaktion des Blutes mit der künstlichen Oberfläche, sondern auch auf Faktoren wie Hypothermie, Hämodilution, Hämodynamik sowie auf dem chirurgischen Eingriff. {8}{52}

Blutungskomplikationen nach dem kardiopulmonalen Bypass sind einerseits auf eine verminderte Plättchenfunktion und -zahl, andererseits auf eine ungenügende Antagonisierung des präoperativ systemisch verabreichten Heparins, eine Protaminüberdosierung oder auf das sogenannte Heparin-Rebound-Phänomen zurückzuführen. {19}{53}

1. Biokompatibilität von künstlichen Oberflächen

Die blutkontaktierende Innenoberfläche der Herz-Lungen-Maschine beträgt ca. 3 m². {118} Der Kontakt des Blutes mit der künstlichen Oberfläche führt zu einer pathophysiologischen Antwort des Organismus im Sinne einer Stimulierung von zellulären und humoralen Komponenten des Blutes, zu denen das Kontaktphasensystem, die Gerinnungskaskade, das fibrinolytische System, das Komplementsystem sowie Thrombozyten und Leukozyten gezählt werden. Eine Aktivierung dieser Systeme oder Zellen kann das sog. Post-Perfusions-Syndrom hervorrufen, das mit Symptomen, wie pulmonaler und renaler Dysfunktion, Fieber nicht-infektiöser Ursache sowie neurologischen Veränderungen einhergeht und zu den oben (Kapitel I) genannten Komplikationen führen kann. {39}{116}{118}{122}

Die Interaktion des Blutes mit der Fremdoberfläche beruht hauptsächlich auf einer unzureichenden Biokompatibilität bzw. Hämokompatibilität der im extrakorporalen Zirkulationsverfahren eingesetzten Materialien.

Biokompatibilität wird definiert als das Ausmaß, in dem ein künstliches Material vom menschlichen Körper toleriert wird, und beschreibt somit die Verträglichkeit von Werkstoffen mit dem körpereigenen Gewebe. {104}{119} Idealerweise sollten die Materialien den Kontakt mit dem Blut erlauben, ohne dass es zu einer Aktivierung der verschiedenen Blutkomponenten oder Freisetzung toxischer Produkte aus dem Material kommt. {42}

Die Konzentration an bioaktiven Substanzen in der Zirkulation nach dem Kontakt mit einer Fremdoberfläche reflektiert somit die Biokompatibilität des verwendeten Materials. {41}

Ein bedeutendes Kriterium für die Thrombogenität einer künstlichen Oberfläche ist die Adsorption von Plasmaproteinen wie Fibrinogen, hochmolekularem Kininogen (HMWK), Vitronektin oder Faktor XII. Vor allem Fibrinogen beschichtet schnell die Fremdoberfläche und aktiviert besonders stark Thrombozyten zur Adhäsion und Aggregation an derselben.

Eine Methode zur Vermeidung der Aktivierung der verschiedenen Blutbestandteile stellt die pharmakologische Inhibition der Schlüsselenzyme der Kaskadenreaktionen dar. {27}{118}

Eine andere Möglichkeit besteht in der Verbesserung der Biokompatibilität der im extrakorporalen Zirkulationsverfahren eingesetzten Materialien durch eine Vergütung der Oberflächen zur Optimierung der Materialeigenschaften.

In Bezug auf die Oberflächenvergütung können zwei Beschichtungstechniken unterschieden werden: die **bioaktive** und die **biopassive** Beschichtung. {39}{119}

Es darf jedoch nicht die Tatsache außer Acht gelassen werden, dass die zelluläre und humorale Aktivierung während der Rezirkulation nicht nur über den Kontakt des Blutes mit der Fremdoberfläche stimuliert wird, sondern auch durch den chirurgischen Eingriff sowie die während der Operation bestehenden Bedingungen verursacht werden kann.

{117}

2. Bioaktive Oberflächenbeschichtung

Zur Herstellung einer biologisch aktiven Oberfläche werden Substanzen wie Heparin, Hirudin, Phosphorylcholin, Wachstumsfaktoren oder NO-Donatoren eingesetzt. {119}

2.1 Verbesserung der Biokompatibilität durch Heparin

2.1.1 Heparin

1916 isolierte der Medizinstudent McLean eine gerinnungshemmende Substanz aus der Leber, die 1922 aufgrund ihres Entdeckungsortes (Leber = lat.hepar) Heparin genannt wurde.

Heparin ist ein körpereigenes Antikoagulans, das vor allem in den basophilen Granulozyten und Mastzellen der Leber, Lunge und Dünndarmmukosa vorkommt und aus Glucosaminschwefelsäure und Schwefelsäureestern der Glucuronsäure aufgebaut ist. Die Mastzellen gelten vermutlich als wichtigster Syntheseort dieses sulfatierten Glucosaminoglykans, da der Heparin Gehalt eines Gewebes mit der Anzahl der in diesem Gewebe vorkommenden Mastzellen korreliert. {10}{60}{82}{88}

Heparin weist jedoch keine einheitliche Molekülstruktur auf, sondern besteht aus einem Gemisch aus verschiedenen Verbindungen mit ähnlicher Saccharid-Grundstruktur, unterschiedlicher Kettenlänge und unterschiedlichem Molekulargewicht. Die Wirkung des Heparins beruht auf seinem stark anionischen Charakter, der die Bindung an Kationen und kationische Eiweißkörper ermöglicht. {10}

Unfraktioniertes Heparin (UFH, Standardheparin), das zu therapeutischen Zwecken aus Schweineintestinalgewebe oder Rinderlungen gewonnen wird, besitzt ein Molekulargewicht von 5000-30.000 D und eine Halbwertszeit von ca. 1,5 Stunden. Bei fraktionierten, niedermolekularen Heparinen (NMH) dagegen liegt das Molekulargewicht bei 4000-9000 D und die Plasmahalbwertszeit beträgt 2-4 Stunden. Heparin kann nur nach parenteraler Gabe absorbiert werden und wird über die Nieren ausgeschieden. Im Gegensatz zum NMH, das nur über die renale Clearance eliminiert wird, kann UFH auch über das retikulo-endotheliale System (RES) abgebaut werden, was die kürzere Halbwertszeit dieses Standardheparins erklärt. {26}{60}{88}{120}

Die antikoagulatorische Wirkung des Heparins setzt sofort ein und beruht vor allem auf der Bindung an Antithrombin III über eine spezifische Kohlenhydratsequenz des Heparins. Diese Bindung führt zu einer Konformationsänderung des Antithrombins, wodurch es zu einer effizienteren Inaktivierung der Gerinnungsfaktoren Thrombin und Xa kommt. Die Bildung des Thrombin-Antithrombin-III-Komplexes (TAT) wird dabei um das 1000fache erhöht. Während UFH bevorzugt die Inaktivierung von Thrombin akzelerieren, wirken NMH hauptsächlich auf den aktivierten Faktor X. {26}{63}{83}

Die Heparinwirkung ist abhängig von der Konzentration an Antithrombin III und Fibrinogen im Blut. Daraus folgt, dass die gerinnungshemmende Wirkung des Heparins bei verminderter Antithrombin III- und erhöhter Fibrinogen-Konzentration abgeschwächt ist. {10}

UFH besitzen eine höhere Affinität zu Plasmaproteinen, Endothelzellen und Makrophagen als NMH und werden nach subkutaner oder intravenöser Gabe rasch an diese Zellen gebunden. Erst nach erfolgter Sättigung der Bindungsstellen ist der therapeutisch wirksame Heparinspiegel im Blut erreicht. Durch das an die Endothelzelloberfläche gebundene Heparin wird die negative Ladung der Gefäßwand verstärkt und dadurch die athrombogenen Eigenschaften des Endothels verbessert.

In den Endothelzellen stimuliert Heparin die Bildung von Heparansulfat, das zur Aktivierung von Antithrombin III in der Lage ist. {26}{44}

Weitere Effekte des Heparins sind die Inhibition von Serinproteasen über den Heparin-Kofaktor II, die Hemmung von Sensibilisierungsreaktionen z.B. über die Inhibition von Komplementfaktoren, die Aktivierung von Makrophagen und Leukozyten und die Wirkung auf Hormone wie z.B. Thyroxin oder ACTH. {43}{120}

Im Verlauf einer Therapie mit Heparin kann es zu unerwünschten Nebenwirkungen wie Blutungen, verzögerte Wund- oder Frakturheilung, Osteoporose oder reversiblen Haarausfall kommen. Eine weitere unerwünschte Wirkung des Heparins stellt die heparininduzierte Thrombozytopenie (HIT) dar. Man unterscheidet dabei die reversible HIT Typ I (5-10 %), die frühzeitig nach Therapiebeginn eintritt von der HIT Typ II (0,5-3 %), die sich erst zwischen dem 5.-11.Tag nach Heparinexposition bemerkbar macht und zu lebensbedrohlichen thrombembolischen Komplikationen führen kann. {26}

Die Antagonisierung des Heparins erfolgt mit dem Antidot Protaminsulfat oder -chlorid im Verhältnis 1:1 (1 ml Protamin für 1000 I.E. Heparin). Protamin ist ein basisches argininreiches Protein aus dem Spermatozoid einiger Fische, das durch Bindung an Heparin dessen Wirkung neutralisiert. Zu beachten ist, dass Protamin bei überschüssiger Gabe ebenfalls eine gerinnungshemmende Wirkung erzeugt und so eine hämorrhagische Diathese hervorrufen kann. {10}{82}{120}

Eine zu schnelle Protaminzufuhr kann zudem zu einer Herz-Kreislauf-Depression mit Blutdruckabfall und Tachykardie führen. Nach der Antagonisierung des Heparins durch Protamin besteht außerdem die Gefahr, dass innerhalb von 1-18 Stunden eine erneute verminderte Gerinnbarkeit des Blutes auftritt. Diesen Mechanismus, dessen genauer Vorgang kontrovers diskutiert wird, bezeichnet man als sogenannten Heparin-Rebound-Effekt. {53}

Heparin wird therapeutisch eingesetzt zur Thromboseprophylaxe, zur Behandlung von Thrombosen, als Marcumar-Ersatz während einer Operation sowie zur Antikoagulation während der extrakorporalen Zirkulation (Dialyse oder Herz-Lungen-Maschine). {33}

2.1.2 Heparinbeschichtung

Die Beschichtung von Oberflächen mit dem Antikoagulans Heparin soll die antithrombotische Wirkung von Heparansulfat am natürlichen Endothel imitieren und dadurch zu einer verbesserten Materialverträglichkeit führen.

Die effektivste Heparinbeschichtungsmethode nach Larm et al. beinhaltet die kovalente Bindung der Heparinmoleküle an die Materialoberfläche. Die Bewahrung der aktiven Sequenzen des Heparins erfolgt dabei über die Technik der Endpunktbefestigung, die somit eine bioaktive Oberflächenstruktur gewährleistet. {75}{118}

Die Hypothese, dass die Reduzierung der thrombogenen Oberflächeneigenschaften durch die Heparinbeschichtung auf der heparininduzierten Beschleunigung der Bildung von Thrombin-Antithrombin-III-Komplexen beruht, kann heute nicht mehr aufrechterhalten werden.

Die Oberflächenbeschichtung mit Heparin bewirkt vielmehr eine Adsorption von antikoagulatorischen und –inflammatorischen Faktoren und eine reduzierte Adhäsion von prokoagulatorischen und –inflammatorischen Proteinen. Diese selektive oder modifizierte Adsorption der Plasmaproteine führt zur Bildung einer blutfreundlichen Sekundärmembran auf der künstlichen Oberfläche und verhindert eine weitere Denaturierung und Aktivierung der adsorbierten Proteine. {119}{123}

2.1.3 Jostra Bioline Coating

Diese Beschichtungsmethode befindet sich seit 1992 im Einsatz. Die Simulation eines natürlichen Endothels wird hier durch die Kombination von Polypeptiden und aktivem Heparin erreicht. Auf die Materialoberfläche wird zunächst eine Grundsicht aus immobilisierten Polypeptiden aufgebracht, die als sog. „link system“ fungiert. Dabei kann die Adsorption der Polypeptide sowohl auf hydrophilen als auch auf hydrophoben Oberflächen erfolgen. Unter Erhaltung der aktiven Heparinsequenzen wird dann an diese Grundsicht das hochmolekulare Heparin Liquemin® N 25.000 der Firma Hoffmann-LaRoche AG, D kovalent gebunden. Diese stabile Koppelung des Heparins wird zusätzlich durch ionische Interaktionen zwischen Polypeptid und Heparin verstärkt. {25}{117}{119}

3. Biopassive Oberflächenbeschichtung

Obwohl es in Bezug auf das Blut kein wirklich passives Material gibt, wird durch den Einsatz von Silikonen, löslichen Polymerkunststoffen, „self assembling surfaces“ und Hydrogelen eine relativ inaktive, nicht-thrombogene Materialoberfläche erzielt und somit die Blut-Material-Interaktionen minimiert. {39}{119}

3.1 *Jostra Safeline*

Bei dieser Oberflächenvergütung handelt es sich um eine Polypeptidbeschichtung, die über elektrostatische und van-der-Waal`s-Kräfte physikalisch stabil an die Materialoberfläche gebunden werden. Durch die Anwendung dieses synthetischen Proteins wird eine Hydrophilisierung der künstlichen Oberfläche erreicht.

Bei Kontakt des Blutes mit dieser polypeptidbeschichteten Oberfläche kommt es zu einer beschleunigten Benetzung derselben und somit zur Bildung einer biologisch passiven Oberfläche. Durch diese Formation eines natürlichen Quasiendothels wird eine weitere Adhäsion von Plasmaproteinen vermieden. {119}{123}

4. Hämostase

Unter dem Begriff der Hämostase werden biochemische Reaktionen zusammengefasst, die der Blutstillung und –gerinnung dienen. Die Hämostase stellt demnach einen physiologischen Schutzmechanismus gegen Blutverlust dar, der durch ein harmonisches Zusammenspiel von Gefäßwand, Thrombozyten, Blutgerinnung und Fibrinolyse gewährleistet wird und durch positive und negative Feedbackmechanismen herauf- oder herunterreguliert wird. {31}{57}{59}{82}

4.1 Das Endothel

Das die Gefäßwände auskleidende Endothel bildet eine Barriere zwischen Gefäßlumen und interstitiellem Raum und weist eine selektive Permeabilität auf, die zum einen

durch den das Endothel bildenden einschichtigen Zellverband und zum anderen durch die hohe Stoffwechselaktivität der Endothelzellen gewährleistet wird. {23}

Die Endothelzellen besitzen die Fähigkeit, durch die Synthese bestimmter Substanzen auf die Hämostase sowohl fördernd als auch inhibierend einzuwirken. {105}

Über die Bildung von Faktor V, dem von-Willebrand-Faktor (vWF), Faktor XII-Aktivator, Gewebefaktor und PAF (platelet activating factor) wirkt das Endothel prokoagulatorisch und stellt dadurch eine thrombophile Oberfläche dar.

Die gleichsinnige elektrische Ladung von Endothelzell- und Plättchenmembran verleiht dem Endothel jedoch aufgrund der Coulomb-Abstoßungskräfte thrombophobe Eigenschaften.

Das in den Endothelzellen gebildete Heparansulfat und die Expression des Membranrezeptors Thrombomodulin, der sowohl die Inaktivierung von Thrombin als auch die Aktivierung des Antikoagulans Protein C, das seinerseits die Faktoren Va und VIIa inhibiert, verursacht, führen ebenfalls zu einer Athrombogenität der Gefäßwand.

Eine Beeinflussung der Fibrinolyse erfolgt über die Freisetzung von antifibrinolytischen, thrombophilen (PAI-1) und die Fibrinolyse fördernden Faktoren (t-PA, u-PA).

Die zudem von den Endothelzellen gebildeten Vasodilatoren Stickstoffmonoxid (NO, endothelium-derived-relaxing factor = EDRF) und Prostacyclin (PGI₂) sowie Vasokonstriktoren, wie Endothelin-1, ermöglichen dem Endothel die Regulation der Gefäßweite.

Aufgrund dieser physikalischen (elektronegativ geladene Oberfläche) und biologischen Eigenschaften erweist sich die intakte Wand der Blutgefäße als thromboseresistent. {5}{64}{73}

Darüber hinaus bewirken die Zellen der Gefäßwand über die Expression von spezifischen Adhäsionsmolekülen und Rezeptoren auf ihrer Oberfläche die Anheftung von Leukozyten und die darauf folgende Diapedese, wodurch dem Endothel auch im Rahmen von Entzündungsreaktionen eine bedeutende Rolle zukommt. {23}{67}

Am Gefäßendothel befindet sich folglich der Prozess der Aktivierung und Inhibition von zellulären und humoralen Mechanismen des Blutes in einem ständigen Wechselspiel, um die Fluidität des Blutes und die Unversehrtheit der Gefäße zu gewährleisten. {39}{118}

Im Verlaufe von chirurgischen Eingriffen unter kardiopulmonalem Bypass kann es zu Hypoxie, Thrombinbildung, Produktion von Zytokinen und Verletzungen der Gefäßwand kommen. Dadurch wird die Aktivität der Endothelzellen stimuliert und somit die Hämostase und Leukozytenadhäsion beeinflusst. {39}

4.2 Thrombozyten

Thrombozyten oder Blutplättchen sind scheibchenförmige kernlose Zellen mit einem Durchmesser von 1-4 μm und einer Dicke zwischen 0,5 und 0,75 μm . Im Blut eines gesunden Erwachsenen befinden sich ca. 150.000-350.000 Thrombozyten/ μl . Die durchschnittliche Überlebenszeit der Plättchen beträgt etwa 5-11 Tage und es werden täglich ungefähr 35×10^9 Zellen/l Blut {111} umgesetzt.

Die Bildung der Blutplättchen erfolgt durch Abschnürung aus Megakaryozyten im Knochenmark, wobei aus einer Knochenmarksriesenzelle ca. 1000 Thrombozyten entstehen.

Die aus dem Knochenmark freigesetzten Zellen werden zu $\frac{1}{3}$ in der Milz gespeichert und können bei Bedarf rasch mobilisiert werden. Der Abbau der Blutplättchen erfolgt dann in Lunge, Leber und Milz. {46}{113}

Im Zytoplasma der Thrombozyten befinden sich verschiedene Granula, die sich in α -Granula, elektronendichte Granula und Lysosomen unterteilen lassen. Die α -Granula enthalten Plasmaproteine wie Fibrinogen, Faktor V, Faktor VIII, Fibronectin, Albumin, Kallikrein, α_2 -Antiplasmin und Thrombospondin sowie Plättchen-spezifische Proteine wie Plättchenfaktor 4 (PF4), β -Thromboglobulin (β -TG), von-Willebrand-Faktor (vWF) und den platelet derived growth factor (PDGF). Ein weiterer Bestandteil der α -Granula ist das Glykoprotein P-Selectin (CD62P), das während der Plättchenaktivierung auf der Oberfläche exprimiert wird und zur Bildung von Leukozyten-Thrombozyten-Aggregaten führt, die thrombembolische Komplikationen hervorrufen können.

In den elektronendichten Granula sind ATP, ADP, GTP, GDP, Serotonin und Calcium enthalten. {37}{62}{76}

Die im Blut im Ruhezustand zirkulierenden Thrombozyten werden stimuliert durch freigelegtes Kollagen infolge einer Gefäßwandverletzung, durch Thrombin, ADP oder durch den Kontakt mit künstlichen Oberflächen. Die Aktivierung der Plättchen hat eine

Formveränderung der Zellen zur Folge: Sie wandeln sich in kugelige Zellen mit Pseudopodien um, die an ihrer Oberfläche die membranständigen Rezeptoren Glykoprotein (GP) Ib und IIb/IIIa exponieren. Diese Rezeptoren ermöglichen den Thrombozyten die Adhäsion an der verletzten Gefäßwand sowie die Aggregation untereinander. Bei dem GP IIb/IIIa-Rezeptor-Komplex handelt es sich um ein Calcium-abhängiges Heterodimer, das zur Bindung von Fibrinogen, Fibronectin, Vitronectin und dem vWF in der Lage ist. {6}{81}{111}{120}

Die Bindung der Thrombozyten an die subendothelialen Strukturen der Gefäßwand erfolgt über den vWF, der an die GP Ib-Rezeptoren und die GP IIb/IIIa-Komplexe der Thrombozyten bindet und zur Brückenbildung zwischen den Plättchen und dem freigelegten Kollagen führt, indem er sich über Calciumionen an die verletzte Gefäßwand heftet. Die Konzentration des von Endothelzellen und Megakaryozyten gebildeten vWF im Plasma beträgt 10 µg/ml.

Während nicht stimulierte Blutplättchen kein Fibrinogen binden können, ermöglicht eine Aktivierung der Zellen die Bindung von etwa 45.000 Fibrinogenmolekülen/Zelle an den GP IIb/IIIa-Rezeptor. Dadurch kommt es zur Bildung eines primären Thrombozytenaggregates, das durch die Thrombin-vermittelte Polymerisation des Fibrinogens zu Fibrin, sowie durch die Kontraktion des Zytoskelettes der Plättchen in ein stabiles Gerinnsel umgewandelt wird. {5}{24}{64}{95}{124}

Die Gerinnselbildung stellt zusammen mit der initialen Vasokonstriktion nach einer Gefäßverletzung die primäre Hämostase dar und wird über die Blutungszeit, deren Normwert bei 2-4 Minuten liegt, gemessen. {6}

Über ein offenes kanalikuläres System, das die Granula mit der Plättchenoberfläche verbindet, werden in dieser Phase innerhalb von 20-120 Sekunden die Granulainhalte der aktivierten Thrombozyten freigesetzt. Diese Freisetzungsreaktion führt wiederum zur Aktivierung und Aggregation weiterer Thrombozyten. Im Gegensatz zu den α - und elektronendichten Granula, die ihren gesamten Inhalt entleeren, setzen die Lysosomen nur etwa 30-55 % der in ihnen enthaltenen sauren Hydrolasen frei. {6}{37}{64}{111}

Zusätzlich wird bei der Stimulation der Blutplättchen die Freisetzung von Thromboxan A₂ und platelet activating factor (PAF) aus den Thrombozyten induziert, die als sog. sekundäre Plättchenaktivatoren fungieren (sog. positive feedback loops). {5}{37}

Der PAF stellt einen Entzündungsmediator dar, der außer seiner thrombozytenaktivierenden Wirkung einen chemotaktischen und phagozytoseaktivierenden Effekt auf neutrophile Granulozyten und Makrophagen ausübt und sowohl von diesen Zellen als auch von Endothelzellen freigesetzt werden kann. {6}

Die Messung der Thrombozytenaktivierung erfolgt über die Bestimmung der Plasmakonzentrationen von PF4 oder β -TG aus den α -Granula. {1}

Den wichtigsten Inhibitor der Thromozyten stellt das Prostaglandinderivat Prostacyclin (PGI_2) dar, das vor allem in den Endothelzellen aus Arachidonsäure gebildet wird und die Plättchenaggregation hemmt. Weitere von den Endothelzellen sezernierte Hemmstoffe bilden das Stickstoffmonoxid und das Heparin, das die Plättchenaktivierung indirekt über die Inhibition von Thrombin beeinflusst. {6}{64}

4.2.1 β -Thromboglobulin

Das β -Thromboglobulin ist ein spezifisches Protein in den α -Granula der Thrombozyten mit einem Molakulargewicht von 36.000 D und einer Halbwertszeit von 100 Minuten. {93} Es besteht aus vier identischen Untereinheiten, macht 10 % des gesamten Inhaltes der α -Granula aus und besitzt die Fähigkeit, die Prostacyclinsynthese der Endothelzellen zu hemmen, wodurch wiederum die Plättchenaggregation gefördert wird. {14}{50}{87}{103}

Bei der Thrombozytenaktivierung durch z.B. ADP, Kollagen, Immunkomplexe, Thrombin oder Fremdoberflächen werden die Granulainhaltsstoffe, darunter auch β -Thromboglobulin, über das oben beschriebene offene kanalikuläre System zwischen den Granula und der Plättchenoberfläche freigesetzt. {50}{64}{103}

Die β -Thromboglobulin-Werte im Plasma spiegeln somit die Aktivierung der Thrombozyten wider. {17}

Erhöhte Plasmakonzentrationen von β -Thromboglobulin, bei einem Referenzwert von ca. 35 ng/ml, können bei künstlichen Herzklappen, koronarer Herzkrankheit, akutem Myokardinfarkt, Diabetes mellitus, pAVK und Lungearteriennembolien festgestellt werden. Ebenso steigt die Plasmakonzentration bei abnehmender glomerulärer Filtrationsrate an, da β -Thromboglobulin über die Nieren ausgeschieden wird. {78}

4.3 Plasmatische Gerinnung

Neben dem im Prozess der primären Hämostase entstandenen Thrombozytenpfropf (s. Kapitel 4.2), der dem initialen Verschluss einer Gefäßläsion dient, wird die Stelle an der verletzten Gefäßwand im Zuge der sekundären Hämostase (plasmatische Gerinnung) fest verschlossen.

Bei den plasmatischen Gerinnungsfaktoren handelt es sich um Glykoproteine, die im Blut in niedrigen Konzentrationen (1-100 µg/ml) in Form von inaktiven Vorstufen zirkulieren und in einer kaskadenartigen Reaktion, ähnlich dem Komplementsystem, aktiviert werden. {31}{85}{113}

Die Gerinnungsfaktoren werden zum größten Teil in der Leber gebildet, ihre Synthese kann jedoch auch in den Endothelzellen (vWF) und Megakaryozyten (FXIII, vWF) erfolgen. {57}

Die bei der Aktivierung der Proenzyme erfolgende limitierte Proteolyse erzeugt eine Konformationsänderung der Moleküle, die die aktiven Zentren der Faktoren freilegt.

Die Initiation der Blutgerinnung kann über den intrinsischen (endogenen) oder extrinsischen (exogenen) Weg erfolgen und mündet über die Aktivierung von Faktor X letztendlich in der thrombininduzierten Umwandlung von Fibrinogen in ein stabiles Fibrinpolymer. {31}{113}

A. Intrinsisches System

Das intrinsische System wird aktiviert durch den Kontakt des Blutes mit unphysiologischen Oberflächen. Die bei dieser Kontaktaktivierung beteiligten Faktoren bilden zusammen das **Kontaktphasensystem**.

Dieses System besteht aus dem Faktor XII (Hagemann-Faktor), Präkallikrein (Fletcher-Faktor, PKK), hochmolekularem Kininogen (Fitzgerald-Faktor, HMWK) und dem Faktor XI (Rosenthal-Faktor). Die vier Proteine zirkulieren in inaktiver Form im Plasma, wobei PKK, HMWK und Faktor XI als Komplex gebunden vorliegen.

Die Kontaktaktivierung erfolgt durch Bindung des Hagemann-Faktors an negativ geladene Oberflächen wie subendotheliale Strukturen oder künstliche Materialien im extrakorporalen Kreislauf. Die Autoaktivierung des Faktor XII führt zu dessen

Umwandlung in die Serinproteasen α - und β -FXIIa, wodurch es zur Aktivierung von Faktor XI sowie zur Bildung von Kallikrein (KK) aus PKK kommt. Kallikrein ist in der Lage, Faktor XII zu aktivieren und führt dadurch zu einer Verstärkerschleife (positive Rückkoppelung). Neben der Faktor-XII-Aktivierung ist KK verantwortlich für die Abspaltung von Bradykinin aus HMWK. Bradykinin wiederum erhöht die Gefäßpermeabilität, senkt den Blutdruck, führt zur Kontraktion der glatten Muskulatur, aktiviert neutrophile Granulozyten und setzt den Gewebs-Plasminogen-Aktivator (tPA) aus Endothelzellen frei. {22}{32}{64}{120}

Den wichtigsten Inhibitor des Kontaktphasensystems stellt der C1-Inhibitor dar, der FXIIa und KK durch Komplexbildung inaktiviert. Weitere Inhibitoren sind α_2 -Makroglobulin, α_1 -Antitrypsin, α_2 -Antiplasmin und PAI (Plasminogenaktivator-Inhibitor). {13}{120}

Der über die Kontaktaktivierung durch freigelegtes Kollagen oder andere negativ geladene Oberflächen aktivierte Faktor XII ($\rightarrow \alpha$ -FXIIa) führt über die Aktivierung von Faktor XI zur Aktivierung von Faktor IX, der mit Faktor VIII als Kofaktor den Gerinnungsfaktor X aktiviert. {64}{113}

B. Extrinsisches System

Die Aktivierung des extrinsischen Systems erfolgt im Gegensatz zum intrinsischen System innerhalb von Sekunden und wird durch Gewebe-Thromboplastin, ein Lipoprotein, das aus verletztem Gewebe freigesetzt wird, initiiert. Das Gewebe-Thromboplastin verbindet sich in Anwesenheit von Calcium und Plättchenfaktor 3 (PF3) mit dem Faktor VII und führt ebenfalls zur Aktivierung von Faktor X. {113}{120}

C. Fibrinbildung

Der aktivierte Faktor X initiiert über die Aktivierung von Faktor V die Formation des Prothrombin-Komplexes (Prothrombinase) bestehend aus FVa, Calcium, PF3 und Phospholipiden, der durch proteolytische Spaltung von Prothrombin (Faktor II) zur Thrombinbildung (Faktor IIa) führt.

Thrombin spaltet von Fibrinogen die vasokonstriktorisches wirkenden Fibrinopeptide A und B ab und führt zur Aneinanderlagerung der verbliebenen Fibrinmonomere. Erst durch den fibrinstabilisierenden, von Thrombin aktivierten Faktor XIIa kommt es zur Ausbildung kovalenter Bindungen zwischen den Fibrinmonomeren und dadurch zu einem stabilen Fibringerinnsel. {49}{64}{113}

4.4 Inhibition

Den wichtigsten Inhibitor der Blutgerinnung stellt das Antithrombin III dar, das die Faktoren XIIa, XIa, IXa, Xa, sowie Thrombin und Kallikrein inaktiviert und aufgrund der durch Heparin beschleunigten Reaktionsgeschwindigkeit auch als Heparin-Kofaktor I bezeichnet wird.

Der Inhibitor Protein C, der durch Thrombin aktiviert wird, zerstört proteolytisch mit Protein S als Kofaktor die Gerinnungsfaktoren V und VIII.

Als weitere Gerinnungsinhibitoren sind der Heparin-Kofaktor II, α_2 -Makroglobulin, α_1 -Antitrypsin und der C1-Inhibitor zu nennen. {59}{64}

4.4.1 Antithrombin III

Das einkettige Glykoprotein Antithrombin III mit einem Molekulargewicht von 58.000 D besteht aus 432 Aminosäuren und drei Disulfidbrücken und besitzt eine Halbwertszeit von 2,8 Tagen. Es wird in der Leber und in den Endothelzellen der Gefäße gebildet und ist normalerweise mit einer Konzentration von 0,15 g/l im Plasma vertreten. {5}{7}

Antithrombin III wird als wichtigster im Plasma vorkommender Serinproteinaseinhibitor angesehen. Es inaktiviert vor allem Thrombin und Faktor Xa und in geringerem Ausmaß auch die Faktoren IXa, XIa, XIIa und Kallikrein, Plasmin, Trypsin und Chymotrypsin.

Die Inaktivierung erfolgt durch die Bildung eines irreversiblen Komplexes, indem das Antithrombin eine feste Bindung mit dem Serin im aktiven Zentrum der Proteasen eingeht. {5}{102}{108}

4.4.1.1 Thrombin-Antithrombin-III-Komplex (TAT)

Thrombin kommt in freier Form im Plasma praktisch nicht vor, sondern überwiegend im Komplex gebunden in inaktiver Form.

Bei der Neutralisierung von Thrombin entsteht der sehr stabile Thrombin-Antithrombin-III-Komplex, der eine Halbwertszeit von 10-15 Minuten besitzt, im Verhältnis 1:1. Die Plasmakonzentration des komplexierten Thrombins beträgt normalerweise weniger als 5 µg/l. {5}{49}{109}

In Gegenwart von Heparin wird die Komplexbildung enorm beschleunigt, indem die Bindung von Heparin an Antithrombin III eine allosterische Veränderung des Inhibitors zur Folge hat und Thrombin dadurch schneller gebunden werden kann. {97}{102}

Die Bestimmung von TAT dient der Erfassung einer intravasalen Thrombinbildung und lässt auf einen ablaufenden Gerinnungsprozess schließen. Eine erhöhte Plasmakonzentration des Komplexes deutet somit auf eine Hyperkoagulabilität mit der Folge eines erhöhten Risikos für thrombembolische Komplikationen hin.

TAT ist demnach ein Aktivierungsmarker, der ein indirektes Maß für die Thrombinbildung darstellt und das Ausmaß der Gerinnungsaktivierung reflektiert. {5}{109}

4.5 Fibrinolyse

Das fibrinolytische System dient dem Abbau der bei der Blutgerinnung entstandenen Fibrinpolymere.

Das in der Leber synthetisierte einkettige Glykoprotein Plasminogen mit einem Molekulargewicht von 90.000 D und einer Halbwertszeit von 2,25 Tagen ist der bedeutendste Faktor im Prozess der Fibrinolyse. Es zirkuliert als inaktive Vorstufe des proteolytischen Enzyms Plasmin mit einer Konzentration von 120 mg/l im Plasma und kann über einen extrinsischen oder intrinsischen Weg aktiviert werden.

Plasmin ist eine Serinprotease, die zur Spaltung von Fibrin, Fibrinogen und der Faktoren V und VII in der Lage ist. Durch die Inaktivierung der Gerinnungsfaktoren V und VII wird die Fibrinneubildung gehemmt.

Die Plasminogenaktivierung über den intrinsischen Weg erfolgt durch α - oder β -FXIIa, FXIa oder KK. Diesem System kommt hier jedoch eine untergeordnete Bedeutung zu. Das für die Plasminogenaktivierung relevantere extrinsische System aktiviert die Plasminbildung über den Gewebeplasminogenaktivator (t-PA) und den urinären Plasminogenaktivator (u-PA, Urokinase). Die bei dem Fibrinabbau durch Plasmin entstehenden Spaltprodukte besitzen eine antikoagulatorische Wirkung, da sie die Polymerisation der Fibrinmonomere verhindern.

α_2 -Antiplasmin stellt den wichtigsten Inhibitor von Plasmin dar, indem es durch seine hohe Spezifität und hohe Konzentration im Plasma zur raschen Ausbildung eines Komplexes führt. Ist das α_2 -Antiplasminpotential erschöpft, kann α_2 -Makroglobulin ebenfalls inhibitorisch wirken. Die von Makrophagen, Monozyten, Thrombozyten, Endothelzellen und der Plazenta freigesetzten Plasminogenaktivator-Inhibitoren (PAI) inhibieren die Fibrinolyse durch die Ausbildung äquimolarer Komplexe mit t-PA und u-PA. {6}{64}{77}{120}

Das Gerinnungssystem und das fibrinolytische System sind zwei Mechanismen, die miteinander im Gleichgewicht stehen und so vor Blutungen, Thrombosen oder Gefäßschäden schützen. Um dieses Gleichgewicht beizubehalten und ein Übergewicht eines dieser Systeme zu verhindern, werden sowohl die Koagulation als auch die Fibrinolyse von Regulationsproteinen kontrolliert. {77}

5. Hämolyse

Der in den Erythrozyten enthaltene rote Blutfarbstoff Hämoglobin besteht aus einem Globinanteil aus vier Peptidketten und vier Hämgruppen und hat ein Molekulargewicht von 64.500 D. Das Häm gehört zu den Porphyrinen bestehend aus vier Pyrrolringen, die an ein zweiwertiges Eisenatom gebunden sind.

Der Mensch kann vier verschiedene Peptidketten bilden (α , β , γ , δ), wobei das HbA₁ (2 α - und 2 β -Ketten) mit 97,5 % den größten Anteil ausmacht.

Hämoglobin spielt eine bedeutende Rolle im Atemgastransport, da es die Fähigkeit besitzt, Sauerstoff reversibel zu binden und so im Blut zu transportieren.

In einem Erythrozyt sind etwa 28-34 pg Hämoglobin enthalten und der Normwert für die Hämoglobinkonzentration im Blut beträgt 140-155 g/l. {49}{113}

Die Lebensdauer der Erythrozyten beträgt ca. 120 Tage. Die gealterten Zellen werden im retikuloendothelialen System von Leber, Milz und Knochenmark abgebaut, wobei es zur Hämoglobinfreisetzung kommt. Das freie Hämoglobin im Plasma wird an Haptoglobin gebunden zur Leber transportiert und dort zu Bilirubin abgebaut, das dann über die Galle ausgeschieden wird. {49}

Freies Hämoglobin kann allerdings auch im Rahmen eines gesteigerten Erythrozytenabbaus z.B. durch physikalische oder chemische Noxen auftreten. Daher ist die Konzentration an freiem Hämoglobin im Plasma eine bedeutende Kenngröße, um das Ausmaß einer Hämolyse z.B. bei extrakorporalem Kreislauf, Arzneimittel- oder Schwermetallintoxikationen oder Herzklappenersatz beurteilen zu können.

Von einer intravasalen Hämolyse spricht man ab einer Konzentration von über 20 mg freiem Hämoglobin in 1 l Plasma. {101}

6. Das inflammatorische System

6.1 Das Komplementsystem

Das Komplementsystem ist ein Multienzymsystem aus ca. 20 Plasmaproteinen mit 9 Hauptkomponenten (C1-9), die über eine kaskadenartige Reaktion aktiviert werden und stellt die unspezifische humorale Immunabwehr des Körpers dar. Eine Aktivierung des Komplementsystems führt zur Abtötung von Pathogenen durch Zelllyse sowie zur Induktion von Entzündungsreaktionen. {49}{66}{113}

Die Synthese der Komplementkomponenten erfolgt in der Leber, dem Gastrointestinaltrakt und in Phagozyten am Ort einer Entzündung. Ihre Konzentration im Blut beträgt 3-4 g/l, wobei 30 % der Gesamtkonzentration die Komponente C3 darstellt. {100}

Die Komplementsystemaktivierung kann über drei verschiedene Wege (klassischer Weg, Lectin-Weg und alternativer Weg) erfolgen, die alle zur Aktivierung von C3

führen und mit der Formation des terminalen Lysekomplexes C5b-9, der als Membranangriffskomplex die Zielzellen zerstört, enden. {40}

Die Aktivierung des klassischen Weges erfolgt über Antigen/Antikörper-Komplexe komplementbindender Immunglobuline (IgM und IgG), proteolytische Enzyme oder durch direkte Bindung der Komplementkomponente C1 an ein Pathogen. Auch nach der Verabreichung von Protaminsulfat gebildete Heparin-Protamin-Komplexe (z.B. nach kardiopulmonalem Bypass) besitzen die Fähigkeit, den klassischen Weg der Komplementaktivierung einzuleiten. {29}{39}{40}{100}

C1 besteht aus einem Molekül C1q und je zwei Molekülen C1r und C1s. Nach der Bindung von C1q an das Ig oder Pathogen folgt die Spaltung von C2 und C4 über die aktivierten Komponenten C1r und C1s. Dies führt zur Bildung des C4b2a-Komplexes, der als C3-Konvertase die Komponente C3 spalten kann. {40}{100}

Eine Aktivierung des Komplementsystems über den klassischen Weg macht sich demzufolge an der erhöhten C4a-Konzentration bemerkbar. {11}

Der Lectin-Weg wird durch ein Mannose-bindendes Protein aktiviert, das die Fähigkeit zur Bindung an Mannose-haltige Kohlenhydrate von Mikroorganismen besitzt und aufgrund seiner strukturellen Ähnlichkeit mit C1q ebenfalls die Komponenten C1r und C1s stimulieren kann. {40}{100}

Die dritte Möglichkeit der Komplementaktivierung stellt der alternative Weg dar. Hier kommt es zur direkten Aktivierung von C3 durch Stimuli wie bakterielle Endotoxine, Immunkomplexe oder artifizielle Oberflächen. Das als Folge der C3-Aktivierung entstandene C3b bildet einen Komplex mit dem Plasmafaktor B, der durch Faktor D aktiviert (C3bBb) und durch das Plasmaprotein Properdin stabilisiert wird. Dieser Komplex besitzt ebenfalls die Fähigkeit zur Spaltung von C3 (positives Feedback).

{39}{67}{85}{100}

Ebenso aktivierend auf das Komplementsystem wirken die Blut-Luft-Grenzfläche während der Oxygenation im kardiopulmonalen Bypass sowie eine regionale Ischämie.

{11}{29}{56}{69}

Das über die verschiedenen Wege gebildete C3b fungiert als Opsonin und fördert so die Phagozytose von Pathogenen durch neutrophile und eosinophile Granulozyten oder Makrophagen. Außerdem führt C3b zur Bildung einer C5-Konvertase, die die

Komplementkomponente C5 in C5a und C5b spaltet. Die Aktivierung von C5b initiiert letztlich die Bildung des terminalen Lysekomplexes C5b-9 (TCC). {40}{100}{120}

Dieser Komplex besitzt außer der Lyse von Zellen auch die Fähigkeit zur Plättchenaktivierung und kann durch Expression von Endothelzellrezeptoren eine Leukozytenadhäsion an der Gefäßwand hervorrufen. {39}

Die bei der Komplementaktivierung entstehenden Anaphylatoxine C3a und C5a bewirken Vasokonstriktion, eine erhöhte Gefäßpermeabilität, die Freisetzung von Histamin aus Mastzellen und Basophilen und von Interleukin-1 aus Monozyten, eine Kontraktion der glatten Muskulatur sowie die Stimulation von neutrophilen Granulozyten, Monozyten und Thrombozyten. Vor allem C5a stellt einen bedeutenden Aktivator der Neutrophilen dar, indem er zur Adhäsion der Zellen am Gefäßwandendothel führt und die Freisetzung von lysosomalen Enzymen und freien Sauerstoffradikalen induziert. {11}{20}{39}{58}{67}{110}

Das Komplementsystem wird durch Regulatorproteine (C1-Inaktivator, Faktor I und seine Kofaktoren CR1 und DAF) kontrolliert, die an den einzelnen Komponenten ansetzen und die Komplementaktivierung auf körperfremde Zellen limitieren. {85}{100}

6.1.1 SC5b-9 (TCC)

Die Aktivierung des Komplementsystems endet in der Bildung eines sogenannten Membranangriffskomplexes oder terminalen Lysekomplexes, der aus den Komplementkomponenten C5b, C6, C7, C8 und C9 aufgebaut ist.

Durch die Bildung von C5b wird die Komplexbildung mit je einem Molekül C6, C7 und C8 im Verhältnis 1:1:1:1 initiiert, wodurch es zur Konformationsänderung der Komponenten C7 und C8 kommt. Diese Konformationsänderung bewirkt die Exposition von hydrophoben Gruppen an den Molekülen, die die Insertion in die Lipiddoppelschicht ermöglichen.

Die Bindung von C8 induziert die Polymerisation von 10-16 Molekülen C9 in eine hohlzylinderförmige Struktur, die mit den hydrophoben Anteilen in die Zellmembran eingelagert ist und einen hydrophilen transmembranalen Kanal mit einem Durchmesser von 10 nm bildet. Auf diese Weise werden die selektiven Permeabilitätseigenschaften

der Zellmembran gestört und es kommt durch die Veränderung der intrazellulären Kalziumkonzentration sowie des Elektrolyt- und Wasserhaushaltes zur osmotischen Lyse der Zielzelle. {9}{40}{66}{100}{105}

Eine weitere Funktion des C5b-9-Komplexes ist die Induktion der Freisetzung von freien Sauerstoffradikalen, Prostaglandinen, Leukotrienen und Zytokinen. {56}

Das Komplementsystem wird durch Regulatorproteine kontrolliert, um eine unkontrollierbare Komplementaktivierung mit der Folge eines Angriffs auf die Körperzellen zu verhindern. Kontrollproteine wie das S-Protein (Vitronectin), HRF (homologous restriction factor) und das 18kD Protein CD59 wirken speziell auf den Membranangriffskomplex C5b-9, indem sie die Bildung des transmembranalen Tunnels verhindern. {100}

Durch Interaktion des S-Proteins mit dem C5b-7-Komplex kommt es zur Formation des hydrophilen SC5b-7-Komplexes, der unfähig ist, die Zellmembran zu durchdringen und letztlich zur Bildung des SC5b-9-Komplexes, der aufgrund der durch das S-Protein verhinderten C9-Polymerisierung keine lytische Wirkung mehr besitzt. {85}

Die Konzentration des C5b-9-Komplexes spiegelt die Anzahl des gebildeten Anaphylatoxins C5a wider und somit das Ausmaß der Komplementaktivierung. {72}

6.2 Leukozyten

Im Blut des Erwachsenen befinden sich 4000-10.000 Leukozyten/ μ l, die der Abwehr und Beseitigung von Krankheitserregern und anderen Fremdstoffen sowie von Zelltrümmern dienen. Leukozyten sind amöboid beweglich, haben die Fähigkeit zur Phagozytose und werden unter anderen durch Interleukin-8, C5a oder PAF chemotaktisch an den Ort einer Entzündung gelockt. Da sie die Gefäßwände durch reversible interendotheliale Lücken überwinden und ins Gewebe einwandern können (Diapedese), ist die mittlere Zirkulationszeit der Leukozyten mit 7 Stunden relativ kurz. Nach morphologischen und funktionellen Gesichtspunkten lassen sich die Leukozyten in Granulozyten (60 %), Monozyten (4-8 %) und Lymphozyten (25-40 %) unterteilen. Veränderungen der Anzahl der Leukozyten resultieren demnach meist aus einer erhöhten oder verminderten Zahl an neutrophilen Granulozyten oder Lymphozyten.

Steigt die Leukozytenzahl im Blut über 10.000/ μ l spricht man von einer Leukozytose, die mit den meisten akuten Entzündungen einhergeht. Bei einer Leukozytenzahl unter 4000/ μ l handelt es sich um eine Leukopenie, bei der überwiegend die Neutrophilen vermindert sind. Als Ursache hierfür können eine verstärkte Auswanderung der Leukozyten in das Gewebe, ein gesteigerter Zelluntergang oder eine verminderte Produktion angesehen werden. {28}{51}{87}{99}{113}

6.2.1 Granulozyten

Granulozyten sind polymorphkernige Zellen und machen 60 % der Gesamtleukozytenzahl aus. Nach der Anfärbarkeit ihrer Granula können sie in neutrophile (>90 %), eosinophile (2-4 %) und basophile (0,5-1 %) Granulozyten unterteilt werden.

Eosinophile Granulozyten

Die vor allem in der Haut, Lunge und im Gastrointestinaltrakt vorhandenen eosinophilen Granulozyten besitzen die Fähigkeit zur Phagozytose und enthalten in ihren Granula Hydrolasen, Peroxidasen und basische Proteine. Eine Eosinophilie tritt bei allergischen Reaktionen, Wurminfektionen und Autoimmunkrankheiten auf.

Basophile Granulozyten

In den Granula der basophilen Granulozyten sind Heparin und Histamin gespeichert. Bei der Bindung von IgE-Antikörpern an die Rezeptoren auf der Oberfläche der Basophilen kommt es zur Degranulation und so durch Histaminausschüttung zu einer allergischen Reaktion mit Gefäßdilatation, Hautrötung sowie Quaddel- und Ödembildung. Diese Reaktion kann jedoch auch durch Komplementfaktoren oder andere Granulozytenenzyme hervorgerufen werden.

Die Zirkulationszeit der basophilen Granulozyten beträgt etwa 12 Stunden. {47}{113}

Neutrophile Granulozyten

Die Hälfte der aus dem Knochenmark ins Blut freigesetzten neutrophilen Granulozyten zirkuliert nicht im Blut, sondern bildet durch Haftung an der Endothelwand von Gefäßen vor allem in Lunge und Milz einen marginalen Randpool. Diese sogenannten ruhenden Zellen können unter Anstrengung oder erhöhtem Adrenalin Spiegel rasch mobilisiert werden. Eine Neutrophilie beruht also entweder auf einer vermehrten Freisetzung aus dem Knochenmark oder auf einer Verschiebung des Gleichgewichtes zwischen marginalem Randspeicher und zirkulierendem Pool. {47}{99}{113}

Eine große Anzahl der Granulozyten befindet sich in der Lunge, Mundhöhle, Milz, Leber und im Gastrointestinaltrakt. Die Neutrophilen besitzen im Blut eine Halbwertszeit von 6 Stunden, im Gewebe halten sie sich etwa 1-4 Tage auf.

Die Aktivierung der Zellen erfolgt durch Faktoren wie C3a, C5a, PAF (Platelet-activating factor), Faktor XIIa, Kallikrein und Leukotrien B₄, aber auch durch direkten Kontakt der Granulozyten mit Fremdoberflächen. Vor allem die Komplementaktivierung spielt eine wichtige Rolle bei der Stimulation von neutrophilen Granulozyten. C5a induziert die Chemotaxis, Aggregation und Margination der Zellen und führt zur Bindung der Neutrophilen an das Gefäßendothel. {11}{39}{58}{106}{110}

Die Adhäsionsreaktion wird durch spezifische Adhäsionsmoleküle auf den Endothelzellen (E-Selectin (CD62E), P-Selectin (CD62P)) und Leukozyten (CD11a,b,c/CD18, L-Selectin (CD62L)) vermittelt und ist die Voraussetzung für die darauf folgende transendotheliale Migration der Zellen ins Gewebe. Durch die relativ schwache Bindung über die Selectine wird eine rollende Bewegung der Leukozyten entlang dem Endothel in Richtung der Entzündung initiiert. Die aktivierten Granulozyten exprimieren eine erhöhte Anzahl an CD11b/CD18-Rezeptoren auf ihrer Oberfläche, über die eine feste Bindung der Leukozyten an interzelluläre Adhäsionsmoleküle (ICAM-1) auf den Endothelzellen erfolgt. {4}{56}{62}{76}

Aktivierte neutrophile Granulozyten reagieren mit einer Freisetzung von freien Sauerstoffradikalen (respiratorischer Burst) sowie der in den Granula enthaltenen proteolytischen Enzyme. {28}{76}

Die Hauptfunktion der Neutrophilen besteht in der Phagozytose und dem Abbau von Krankheitserregern. Die dafür erforderlichen lysosomalen Enzyme wie Elastase, Kollagenase oder Myeloperoxidase sind in den primären oder azurophilen Granula der Granulozyten enthalten. {28}{47}{99}

Besonders zu Beginn von akuten Infektionen ist im Blut ein Anstieg der Neutrophilenzahl zu beobachten. {113}

Die polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten besitzen zudem ein ausgeprägtes Destruktionspotential, das bei einer Fehlsteuerung des granulozytären Reiz-Antwort-Verhaltens schwerwiegende Folgen haben kann. Ein Beispiel dafür ist das Reperfusionssyndrom, bei dem es bei der Reperfusion eines zeitweise ischämischen Gewebeareals, z.B. nach dem Einsatz der Herz-Lungen-Maschine, zur Schädigung des Kapillarendothels bis hin zu Organfunktionsstörungen kommen kann. Dieses Syndrom ist die Folge einer überschießenden Granulozytenreaktion, die auf einer erhöhten Anzahl von Adhäsionsproteinen auf dem ischämischen Endothel basiert, wodurch die bei der Reperfusion einströmenden Zellen sofort gebunden werden. {28}

6.2.1.1 PMN-Elastase

Die PMN-Elastase ist in hoher Konzentration in den azurophilen Granula der polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten enthalten. Es handelt sich hierbei um ein proteolytisches Enzym mit einem Molekulargewicht zwischen 33.000 und 36.000 D und geringer Substratspezifität, das bei pH-Werten im neutralen Bereich (pH 7,5-8,5) ein Aktivitätsmaximum aufweist. {11}{16}{70}{91}

Dieses Enzym besitzt die Fähigkeit, Fibrinogen, Fibronectin, Kollagen, Elastin, Plasminogen und Immunglobuline zu spalten. Des Weiteren kann die aus den Granulozyten freigesetzte Elastase Nukleotide aus Endothelzellen abspalten, die daraufhin den Vasodilator PGI₂ synthetisieren. {16}{70}{84}{106}

Zudem ist die PMN-Elastase in der Lage, Gerinnungsfaktoren und –inhibitoren zu spalten und kann über die Bildung der anaphylaktisch und chemotaktisch wirksamen Komplementkomponenten C3a und C5a das Komplementsystem aktivieren. {35}{59}{67}

Normalerweise dient die Elastase dem intrazellulären Abbau von phagozytiertem Material in den Phagolysosomen. Bei starker Aktivierung der Granulozyten oder wenn es sich um große nicht zu phagozytierende Partikel handelt (z.B. Fremdoberflächen), kommt es zur Freisetzung der Elastase und anderen proteolytischen Enzymen in den Extrazellularraum (sog. frustrane Phagozytose). Dies kann zum Abbau von Bindegewebskomponenten, wie z.B. den Strukturproteinen des Lungengewebes, der Basalmembran von Gefäßen oder Kollagen führen. {16}{67}{85}

Der in hoher Konzentration im Plasma vorhandene wichtigste Inhibitor der PMN-Elastase ist das α_1 -Antitrypsin (α_1 -PI), der die Elastase durch Bildung eines nahezu irreversiblen Komplexes innerhalb von Millisekunden inaktiviert. Dieser Elastase- α_1 -PI-Komplex besitzt eine Halbwertszeit von ca. einer Stunde und wird zur Eliminierung über die Blutbahn dem RES vor allem in der Leber zugeführt. Bei vorliegendem α_1 -PI-Mangel wurde ein erhöhtes Risiko für Lungengewebsschädigungen festgestellt, das auf eine unzureichend kontrollierte Elastase-Aktivität zurückgeführt werden kann. Als Beispiel sei hier das Lungenemphysem genannt, dessen Entwicklung vor allem mit einem erhöhten Umsatz an Elastin einhergeht. {11}{12}{45}{67}{102}

Die Konzentration des Enzym-Inhibitor-Komplexes im Plasma gilt als Maß für die Granulozytenaktivierung. Der Normwert liegt bei ca. 22 $\mu\text{g/l}$ Plasma. {3}{67}

Als ein weiterer Elastaseinhibitor ist das α_2 -Makroglobulin zu nennen, das jedoch eine niedrigere Plasmakonzentration als α_1 -Antitrypsin aufweist sowie eine geringere Substrataffinität besitzt, da α_1 -Antitrypsin über eine 10mal höhere Anzahl an Elastasebindenden Gruppen als das α_2 -Makroglobulin verfügt. {12}{67}{71}

6.2.2 Monozyten

Monozyten zeichnen sich durch ihre besonders hohe Phagozytosekapazität aus und bilden zusammen mit den neutrophilen Granulozyten das unspezifische zelluläre Abwehrsystem des Blutes. Ihre Halbwertszeit im Blut liegt bei 70 Stunden.

Zwei bis drei Tage, nachdem die Monozyten in das Blut freigesetzt wurden, wandern diese in das Gewebe aus, vergrößern sich und werden zu Makrophagen, die sich durch eine erhöhte Anzahl an Mitochondrien sowie an lysosomalen Enzymen in den Granula

von den Monozyten unterscheiden. Zusammen bilden sie das mononukleäre Phagozytensystem (retikulo-endotheliales System; RES).

Aktivierte Monozyten bilden zytotoxische Stoffe und beeinflussen über die Sekretion von Mediatoren wie Interleukin-1, Interleukin-6, tumor necrosis factor- α (TNF- α), Proteasen oder Komplementkomponenten die spezifische Immunantwort und Chemotaxis und rufen Gewebeabbauvorgänge hervor. {39}{47}{113}

6.2.3 Lymphozyten

Lymphozyten bilden die spezifische Immunabwehr des Blutes und werden unterteilt in B- und T-Lymphozyten.

Die im Knochenmark gebildeten B-Zellen machen 15 % der Lymphozyten aus und sind für die humorale Immunreaktion verantwortlich, indem sich ein Teil der Zellen bei Antigenkontakt zu gewebeständigen Plasmazellen umwandelt. Der andere Teil bildet so genannte Gedächtniszellen, die das Antigen bei einem zweiten Kontakt wieder erkennen.

70-80 % der Lymphozyten stellen die im Thymus gebildeten T-Zellen dar, die sich nach Antigenkontakt vermehren und zu CD4-Helfer-Zellen, die B-Lymphozyten und Makrophagen aktivieren und CD8-Killer-Zellen, die antigentragende Zellen abtöten, differenzieren. Die T-Lymphozyten bilden die spezifische zelluläre Abwehr des Körpers. {47}{113}

7. Fragestellung und Ziele der Arbeit

Die vorliegende Arbeit untersucht den Einfluss bioaktiver (Bioline) und biopassiver (Safeline) Oberflächenbeschichtungen von Oxygenatoren auf das Gerinnungs- sowie inflammatorische System.

In einem in-vitro-HLM-Modell wurden je fünf unbeschichtete, heparinbeschichtete (Bioline) und polypeptidbeschichtete (Safeline) QUADROX Hohlfasermembranoxygenatoren der Firma JOSTRA zwei Stunden lang der extrakorporalen Zirkulation unterzogen und die Konzentration verschiedener Untersuchungsparameter zu jeweils gleichbleibenden Abnahmezeitpunkten gemessen. Die unbeschichteten Oxygenatoren dienten dabei als Kontrollgruppe.

Zusätzlich erfolgte ein Vergleich der polypeptidbeschichteten Oxygenatoren sowohl mit schnell gealterten Safeline-Oxygenatoren, als auch mit Safeline-Oxygenatoren, die vor Beginn der Rezirkulation mit heparinisierter Vorspüllösung kontaktiert wurden, um zum einen die Haltbarkeit der Polypeptid-Oberflächenvergütung zu beurteilen und zum anderen eine mögliche Verbesserung der Biokompatibilität durch die heparinisierte Vorspüllösung zu testen.

II. MATERIAL UND METHODEN

1. Herz-Lungen-Maschine

Um die Hämokompatibilität der QUADROX Oxygenatoren der Firma JOSTRA, D zu testen, erfolgte die Simulation des extrakorporalen Kreislaufs mit Hilfe eines in-vitro-HLM-Modells.

Die Oxygenatoren wurden dazu über ein Schlauchsystem mit dem als Reservoir dienenden Transfusionsbeutel der Firma JOSTRA (Vol. 800 ml) verbunden. Dabei betrug die Länge des Schlauches vom Transfusionsbeutel durch die Rollerpumpe (Stöckert Instr. München, D, Typ 10-40-00) zum venösen Eingang des Oxygenators 140 cm, die des Schlauches vom arteriellen Ausgang zum Transfusionsbeutel 40 cm. Verwendet wurden PVC-Schläuche 3/8“ x 3/32“ der Firma JOSTRA/Raumedics. Die eingesetzte Rollerpumpe gewährleistete einen kontinuierlichen, nichtpulsatilen Blutstrom.

Zur Verbindung der Schläuche mit dem Transfusionsbeutel wurden Konnektoren (JOSTRA, 1/2“ x 3/8“) angewendet. Für die Probeentnahme diente ein am Konnektor angeschlossener 3-Wege-Hahn (Discofix® der Firma Braun, Melsungen, D) mit aufgesetztem Multi-Adapter (Firma Sarstedt, Nümbrecht, D). Mit einem ebensolchen Adapter wurde der seitliche Ausgang des zweiten Konnektors verschlossen.

Die zu testenden QUADROX Hohlfasermembranoxygenatoren der Firma JOSTRA bestehen aus zwei Membranpaketen. Das einströmende Blut wird in der ersten Kammer über einen integrierten Wärmetauscher auf eine Temperatur von 28°C gebracht und über mikroporöse Oxygenationsfasern oxygeniert. Der Wärmetauscher wurde mit einem externen Hypothermieregler bestehend aus einem Thermostat (Haake N3, D) und einem Wasserbad (Haake K200, D) kombiniert. Die zweite Kammer des Oxygenators dient nur der Oxygenation bzw. Kohlenstoffdioxidelimination. Der Gasfluss für die Oxygenation betrug 1 l/min.

Über eine Entlüftungsmembran an der Spitze des Oxygenators kann Luft aus dem System eliminiert werden.

Die Okklusion der Rollerpumpe wurde über Schraubklemmen so eingestellt, dass ein arterieller Blutdruck von 60 mmHg während der gesamten Zirkulationszeit aufrechterhalten wurde.

Nach dem Erreichen der gewünschten Pumpenumdrehungszahl zirkulierten 3 l Blut/min durch das Oxygenatorsystem.

Folgende *QUADROX Oxygenatoren* wurden auf ihre Hämokompatibilität untersucht und verglichen:

- *QUADROX non-coated* (ohne Beschichtung);
- *QUADROX Bioline coated*, mit Heparin beschichtet;
- *QUADROX Safeline treated*, mit Polypeptiden beschichtet;
Diese Oxygenatoren wurden zusätzlich vor dem Versuch im HLM-Modell für 1h vorgespült, um die Auswirkung einer heparinisierten Vorspüllösung zu testen.
- *QUADROX Safeline treated*, diese Serie bestand aus *schnell gealterten* Safeline Oxygenatoren;

Zur Beurteilung der Biokompatibilität erfolgte die Untersuchung des Blutes auf folgende koagulatorische und inflammatorische Parameter:

- **Thrombozyten**
- **β -Thromboglobulin**
- **Thrombin-Antithrombin-III-Komplex (TAT)**
- **Hämolyse**
- **Leukozyten**
- **PMN-Elastase**
- **SC5b-9**

2. Versuchsdurchführung

In einem kurzgeschlossenen in-vitro HLM-Modell wurden ca. 500 ml Frischblut sowie Blutzusätze für 120 Minuten rezirkuliert.

Getestet wurden bei gleichbleibender Versuchsanordnung folgende **QUADROX Hohlfasermembranoxygenatoren der Firma JOSTRA, D:**

- Versuchsreihe I : *QUADROX non-coated*
- Versuchsreihe II : *QUADROX Bioline-coated*, mit Heparinbeschichtung
- Versuchsreihe III : *QUADROX Safeline treated*, mit Polypeptidbeschichtung
- Versuchsreihe IV : *QUADROX Safeline treated, gealtert*

Die Oxygenatoren der Versuchsreihe III wurden vor Versuchsbeginn mit 600 ml temperierter (28°C) Vorspüllösung bei einer Fließrate von 1 l/min für eine Stunde gespült. Versuchsweise erfolgte eine Kontaktierung der Hälfte dieser Oxygenatoren mit Heparin in der Vorspüllösung. Nach der einstündigen Rezirkulation wurde die Lösung wieder aus dem System abgelassen.

Entsprechend den Versuchsreihen I, II und IV wurden anschließend 300 ml Priming-Lösung zur Hämodilution in das Oxygenatorsystem gefüllt.

Die aus der Blutbank bezogene Blutkonserve enthielt 2000 U Liquemin® 25.000/5 ml in 35 ml physiologischer Kochsalzlösung und wurde zunächst gewogen, um die noch hinzuzugebende Heparinmenge (Restheparin) berechnen zu können.

Anschließend erfolgte die **erste Probenentnahme** direkt aus der Blutkonserve. Erst danach wurde das Frischblut vollständig heparinisiert (Zugabe des Restheparins) und mittels des Transfusionsbestecks Sangopur® 40 µm der Firma Braun, Melsungen, D in den als Reservoir dienenden Transfusionsbeutel (800 ml Vol.) der Firma JOSTRA, D entleert. Nach der Entlüftung des Systems und dem Verschließen des Zugangs mit Arterienklemmen wurde das HLM-Modell gestartet.

Während der 120minütigen Rezirkulation des Blutes erfolgten dann die weiteren **Probenentnahmen:**

2.Abnahme:	nach 1 min	Rezirkulation
3.Abnahme:	nach 5 min	Rezirkulation
4.Abnahme:	nach 10 min	Rezirkulation
5.Abnahme:	nach 20 min	Rezirkulation
6.Abnahme:	nach 30 min	Rezirkulation
7.Abnahme:	nach 60 min	Rezirkulation
8.Abnahme:	nach 120 min	Rezirkulation

Aufgrund ungenügender Durchmischung des Blutes an der Entnahmestelle wurden vor jeder Abnahme ca. 2 ml Blut verworfen.

Zur Probengewinnung wurden S-Monovetten® der Firma Sarstedt, Nümbrecht, D verwendet.

Die Entnahme folgender Proben erfolgte immer in der gleichen Reihenfolge:

1) 4,5 ml CTAD-Monovette für die Bestimmung von β -Thromboglobulin:

In eine 4,5 ml Neutralmonovette wurden 450 μ l CTAD-Medium aus einem CTAD-Vacutainer (Roche Diagnostics, Mannheim, D) überpipettiert.

Nach der Blutabnahme wurde die Monovette bis zur Zentrifugation für mindestens 15 Minuten, aber höchstens eine Stunde in ein Eisbad gestellt.

2) 2,7 ml EDTA-Monovette für die Zählung von Leukozyten und Thrombozyten, sowie die Bestimmung von SC5b-9:

Diese Monovette enthält 1,6 mg EDTA/ml Blut.

Direkt nach der Probeentnahme erfolgte die Zählung der Leukozyten und Thrombozyten im EDTA-Blut mit dem Sysmex K-1000, Hämatologie-System.

Anschließend wurde die EDTA-Monovette bis zur Zentrifugation in ein Eisbad gestellt.

3) 10 ml Citratmonovette zur Bestimmung von TAT, PMN-Elastase und freiem Hämoglobin:

Die Monovette enthält 1 ml Citrat (0,106 mol/l) und wurde nach der Probeentnahme bis zur Zentrifugation bei Raumtemperatur stehengelassen.

Für die Probenverarbeitung kamen folgende Zentrifugen zur Anwendung:

- Varifuge RF, Heraeus Instruments, H.Holding Stuttgart, D
- Heraeus Cryofuge 800, D

Die Zentrifugation der CTAD- und EDTA-Blutmonovetten erfolgte für 30 Minuten bei 4°C und 2000 g.

Die Citratblutmonovetten wurden 20 Minuten bei RT (20°C) und 2000 g zentrifugiert.

Nach dem Abzentrifugieren wurde das Plasma in Safe-lock-Reaktionsgefäße der Firma Eppendorf abpipettiert, in flüssigem Stickstoff schockgefroren und bei -20°C bis zur Aufarbeitung aufbewahrt.

3. Blutzusätze

3.A Heparin

Verwendet wurde das hochmolekulare Heparin Liquemin® N 25.000 der Firma Hoffmann-LaRoche AG, D. In 5 ml der wässrigen Injektionslösung sind 25.000 I.E. Heparin (aus Schweinedarm-Mucosa) enthalten.

Als Blutzusatz wurde Liquemin® wie folgt eingesetzt:

3.A.1 Bei der Vorbereitung des Blutentnahmebeutels COMPOFLEX, 500 ml, Fresenius, HemoCare, D für die Frischblutabnahme, um das Blut ungerinnbar zu machen:

In jeden Entnahmebeutel wurden 2000 U Liquemin® 25.000/5 ml in 35 ml physiol. NaCl zugegeben, das heißt 400 µl Liquemin® in 35 ml isotonische Kochsalzlösung (9,0 g NaCl/l; Fresenius Kabi Deutschland GmbH).

3.A.2 Zur vollständigen Heparinisierung der Blutkonserve (3 IU/ml) nach der ersten Probeentnahme:

Dazu wurde die Konserve gewogen und unter Berücksichtigung des Beuteltgewichtes von 30 g das Blutgewicht X g ermittelt:

- a) Blutgewicht X g / Blutdichte 1,07 = Blutvolumen in ml

- b) Maschinenfüllvolumen = Blutvolumen in ml
 - 17,2 ml (1.Abnahme aus der Konserve)
 - + 300 ml (Priming-Volumen)

- c) Benötigte Gesamtheparineinheiten = Heparineinheiten/ml
 - * Maschinenfüllvolumen

- d) Heparinkonzentration = 5000 U/ml
 - ⇒ daraus lässt sich die noch hinzuzufügende Heparinmenge errechnen und durch Verdünnung von Liquemin® mit isotonischer Kochsalzlösung herstellen
 - ⇒ von dieser Verdünnung wurden 1 ml der Blutkonserve hinzugefügt

3.B Priming

Immer kam eine kristalloide isotone, isoionische Vollelektrolytlösung als Priming zur Anwendung.

Die Verwendung von blutfreien physiologischen Flüssigkeiten im extrakorporalen Kreislaufsystem zur Hämodilution führt zu verminderter Viskosität des Blutes und verbesserter Organperfusion. Ebenso werden Gerinnungsvorgänge im verdünnten Blut weniger stark aktiviert.

Der Hämatokritwert sollte dabei jedoch 20-30 % nicht unterschreiten. {115}

Zur Hämodilution wurden dem Blut 300 ml Priming-Lösung zugegeben, die folgende Inhaltsstoffe enthielt:

- 78,3 ml Glucose: Glucosteril® 5 % der Firma Fresenius Kabi, Bad Homburg, D mit Glucose-Monohydrat als Wirkstoff; zur Aufrechterhaltung des Erythrozytenstoffwechsels

- 15,7 ml NaHCO₃: Natriumhydrogencarbonat 8,4 %, Infusionslösungskonzentrat B.Braun Melsungen, D; zur Aufrechterhaltung des physiologischen pH-Wertes des Blutes, da NaHCO₃ ein schwach basischer Puffer ist.

- 206 ml Ringer-Lactat: Ringer-Lactat-Lösung, Fresenius, Bad Homburg, D; zur Hämodilution;
1 l enthält: NaCl 6,00 g
 Natriumlactat-Lsg. 6,34 g
 KCl 0,40 g
 CaCl₂ H₂O 0,27 g
 pH-Wert 5,0-7,0

3.C Vorspüllösung

Die Quadrox Safeline-Oxygenatoren der III. Versuchsreihe wurden vor Versuchsbeginn eine Stunde mit 600 ml heparinierter bzw. nicht-heparinierter Vorspüllösung kontaktiert.

Diese Lösung enthielt:

- 156,6 ml Glucose (Glucosteril® 5 %, Fresenius Kabi, Bad Homburg, D)
- 31,4 ml NaHCO₃ (Natriumhydrogencarbonat 8,4 %, Braun, Melsungen, D)
- 412 ml Ringer-Lactat-Lösung (Fresenius, Bad Homburg, D)
bzw.

411 ml Ringer-Lactat-Lösung und zusätzlich 1 ml Liquemin®N 25.000
(Hoffmann-LaRoche AG, D)

Diese Vorspüllösung wurde nach einstündiger Rezirkulation wieder aus dem Oxygenatorsystem abgelassen.

4. Testmethoden

4.1 Leukozyten und Thrombozyten

Die Zählung der Leukozyten und Thrombozyten erfolgte mit dem Hämatologie-System Sysmex® K-1000 der DIGITANA AG, Hamburg, D.

Systemaufbau:

Der Sysmex® K-1000 besteht aus einem hydraulischen, elektronischen und pneumatischen System.

Das hydraulische System dient dem Ansaugen, Pipettieren, Verdünnen, Mischen und Lysieren. Die Analyse und Berechnung der Messsignale des hydraulischen Systems sowie die Kontrolle der Ergebnisse wird vom elektronischen System übernommen. Das pneumatische System ist verantwortlich für die Erzeugung von konstantem Druck und Vakuum für die Steuerung der Ventile und den Ablauf der Probenmessung im hydraulischen System.

Prinzip der Zellzählung:

Die Leukozyten und Thrombozyten werden nach dem elektrischen Widerstandsprinzip gezählt:

Zu der Zählung der Blutzellen wird die unterschiedliche elektrische Leitfähigkeit von Blut und Verdünnungslösung herangezogen.

Ein Teil der verdünnten Probe wird durch eine Messöffnung gesaugt, durch die ein konstanter Gleichstrom fließt. Beim Durchtritt einer Blutzelle durch diese Öffnung verdrängt sie eine ihrem Volumen entsprechende Menge an Verdünnungslösung und

erzeugt so eine Widerstandsänderung, die proportional der daraufhin eintretenden Spannungsänderung ist. (Nach dem Ohm'schen Gesetz gilt: $U = R \times I$; da hier I konstant ist gilt: $U \sim R$.) Das Volumen der Zelle ist der von ihr erzeugten Widerstandsänderung und somit der Spannungsänderung proportional.

Die Spannungsänderung wird verstärkt und zur Beseitigung von Störimpulsen an einen Diskriminatorkreis übertragen.

Reagenzien:

- Verdünnungsmittel (Diluent):
Sysmex CELLPACK (PK30L), eine isotope Kochsalzlösung zur Verdünnung der Vollblutproben
- Lysemittel für die Leukozytenmessung:
Stromatolyser-3WP, bewirkt eine vollständige Lyse der Erythrozyten

4.1.a Leukozytenzählung:

Verdünnung der Vollblutprobe	:	1 : 250
Probenvolumen	:	0,012 μ l
Diluent-Volumen	:	1,988 ml
Lysemittel	:	1 ml

Für die Zählung werden 0,4 ml der Suspension durch eine Kapillare von 100 μ m Durchmesser gesaugt.

Unter Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors wird die Konzentration der Leukozyten in $n \times 10^3/\mu$ l angegeben.

4.1.b Thrombozytenzählung:

Endverdünnung der Vollblutprobe	:	1 : 25.000
1. Verdünnung	:	1 : 500
Probenvolumen	:	0,004 ml
Diluent-Volumen	:	1,996 ml

2. Verdünnung	:	1 : 50
1. Verdünnung Probenvolumen	:	0,040 ml
Diluent-Volumen	:	1.960 ml

Für die Zählung werden 0,25 ml der Suspension durch eine Kapillare von 75 µm Durchmesser gesaugt.

Unter Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors wird die Konzentration der Thrombozyten in $n \times 10^3/\mu\text{l}$ angegeben.

4.2 β-Thromboglobulin

Die Bestimmung wurde mit Reagenzien und der Laborvorschrift ASSERACHROM® β-TG der Firma Roche/Diagnostica Stada durchgeführt.

Testprinzip:

Es handelt sich um einen enzymimmunologischen in-vitro Test zur quantitativen Bestimmung von β-Thromboglobulin (β-TG) nach dem Prinzip der Sandwich-Technik. Bei der ersten Immunreaktion bindet das in der Probe enthaltene β-TG an spezifische Antikörper, die auf der Oberfläche der Mikrotitrationsplatte fixiert sind. Mit POD-markierten β-TG-Antikörpern werden in der zweiten Immunreaktion Sandwich-Komplexe gebildet, indem die markierten Antikörper an die freien antigenen Determinanten des β-TG binden. Die Menge der Sandwich-Komplexe ist ein Maß für den β-TG-Gehalt der Probe. In einem Waschvorgang wird das überschüssige POD-Konjugat entfernt und nach Zusatz von Harnstoffperoxid und Chromogen (o-Phenylendiamin) die gebundene POD-Aktivität photometrisch bestimmt.

Reagenzien:

- Mikrotitrationsstreifen mit Anti-β-TG beschichtet
- Antikörper-POD-Konjugat (Anti-β-TG-Peroxidase)

- Lsg.2: Antikörper-POD-Konjugat (lyophilisiert) + 8 ml Lsg.4
- Substrat: o-Phenylendiamin (6 Tabl. à 2 mg)
- Peroxid: Harnstoffperoxid (6 Tabl. à 5 mg)
- Lsg.3: Substratlösung: je 2 Tabletten in 8 ml Aqua dest. lösen
- Lsg.4: Puffer-Konzentrat
 - Enthält Albumin, Tween 20 und Phosphat-Puffer
 - 1:10 mit Aqua dest. verdünnt
- Lsg.5: Waschlösung-Konzentrat
 - Enthält NaCl und Tween 20
 - 1:20 mit Aqua dest. verdünnen
- Lsg.6: β -TG-Standard (für die Eichkurve; lyophilisiert)
 - in 2 ml Lsg.4 lösen
- Lsg.7: β -TG-Kontrolle (lyophilisiert)
 - in 2 ml Lsg.4 lösen

Testdurchführung:

Vorbereitend wird das Probenplasma 1:10 mit Lsg.4 verdünnt.

In die Vertiefungen der Mikrotitrationsstreifen wird 200 μ l verdünnte Probe, β -TG-Standard (=Kontrolle) oder Lsg.4 (=Leerwert) pipettiert. Nach einer Inkubationszeit von 1h bei 15-25°C wird die Mikrotiterplatte gewaschen und anschließend je 200 μ l Lsg.2 zugegeben. Nach einer weiteren Inkubationszeit von 1h und einem erneuten Waschschrift wird Lsg.3 zugegeben und exakt für 3 min inkubiert. Die Substratreaktion wird mit Salzsäure 1 mol/l abgestoppt, die Extinktionen werden bei 492 nm am ELISA-Reader (Fa. Dynatech) abgelesen und die Konzentrationen anhand der doppelt-logarithmischen Standardkurve ermittelt.

4.3 TAT (Thrombin/Antithrombin III-Komplex)

Zur Bestimmung von TAT wurden die Reagenzien und die Laborvorschrift Enzygnost® TAT micro der Firma Dade Behring, Marburg, D verwendet.

Testprinzip:

Der Enzymimmunoassay zur Bestimmung von Human-Thrombin/Antithrombin III-Komplex erfolgte nach dem Prinzip der Sandwich-Technik.

An die mit Antikörpern gegen Thrombin beschichtete Oberfläche der Mikrotitrationsplatte bindet im ersten Inkubationsschritt das in der Probe vorhandene TAT. Bei der zweiten Inkubation werden an die freien AT III-Determinanten POD-konjugierte Antikörper gegen Human-AT III gebunden. Durch Auswaschen werden die überschüssigen Enzym-konjugierten Antikörper entfernt. Anschließend wird die gebundene Enzymaktivität bestimmt. Durch Zugabe von verdünnter Schwefelsäure wird die enzymatische Umsetzung von H₂O₂ und Chromogen gestoppt und es folgt die photometrische Bestimmung der der Konzentration von TAT proportionalen Farbintensität.

Mit den Standards wird der Konzentrationsbereich 2-60 µg/l abgedeckt. Bei höheren Konzentrationen muss die Probe verdünnt werden.

Reagenzien:

- Enzygnost TAT micro:
Mit Kaninchen-Antikörpern gegen Human-Thrombin beschichtete Mikrotitrationsplatten.
- Lsg.1: Konjugat-Lösung:
enthält 200 µl Anti-Human-ATIII/POD-Konjugat und 11 ml Konjugat-Puffer;
Anti-Human-ATIII/POD-Konjugat:
Anti-Human-ATIII, Peroxidase-konjugiert, vom Kaninchen;
Konjugat-Puffer:
Enthält TRIS-Pufferlösung (50 mmol/l) und Serumalbumin vom Rind;

- Lsg.2: TAT-Standard-Plasmen S1 bis S4 (human):
Konzentrationsbereich 2 bis 60 µg/l;
- Lsg.3: TAT-Kontrollplasma (human)
- Lsg.4: Proben-Puffer (TAT):
Enthält TRIS-Pufferlösung (100 mmol/l), Tween (10 ml/l) und EDTA (37 g/l);
- Lsg.5: Waschlösung POD:
Tween-haltige (18 g/l) Phosphat-Pufferlösung (90 mmol/l);
- Lsg.6: Puffer/Substrat POD:
Wasserstoffperoxid (0,3 g/l) in Citrat-Pufferlösung;
- Lsg.7: Chromogen POD:
o-Phenylendiamin-dihydrochlorid
- Lsg.8: Stopplösung POD:
0,5 N Schwefelsäure

Vor Versuchsbeginn müssen alle Reagenzien und Proben auf 20-25°C erwärmt werden.

Testdurchführung:

In jede Vertiefung wird 50 µl Probenpuffer gegeben und anschließend je Vertiefung 50 µl Standard, Kontrolle oder Probe zupipettiert. Die Probe wird 15 min bei 37°C inkubiert. Anschließend wird die Mikrotiterplatte gewaschen und je 100 µl Konjugat-Lösung zugegeben. Die Testplatte wird 15 min bei 37°C inkubiert. Nach wiederholtem Waschen wird in jede Vertiefung 100 µl Chromogen-Puffer/Substrat-Lösung zupipettiert. Nun wird bei 20-25°C für 30 min lichtgeschützt inkubiert, anschließend je 100 µl Stopplösung zugegeben und die Extinktionen bei einer Meßwellenlänge von 492 nm am ELISA-Reader (MR7000, Fa. Dynatech) abgelesen. Die Konzentrationen der Proben werden direkt anhand der mitgeführten Standardkurve berechnet und in µg/l angegeben.

4.4 Freies Hämoglobin – Hämolyse –

Für die Bestimmung des freien Hämoglobins in der Blutprobe kam der MP3 Hämoglobin-Farbttest der Firma Roche Diagnostics, Mannheim, D zur Anwendung.

Testprinzip:

Hb + Cyanid + Ferricyanid → Hb-Cyanid

Das Serum-Hämoglobin wird mit Cyanid und Ferricyanid versetzt und als Hämoglobin-Cyanid gemessen.

Die Messung erfolgt bei einem Absorptionsmaximum von 546 nm und bei 691 nm als Leerwert.

Reagenzien:

Lsg.1: Kalium-Hexacyanoferrat-III

Lsg.2: Kalium-Cyanid

Vorbereitung der Reaktionslösung:

25 ml der Lsg.1 werden auf 1000 ml mit Aqua dest. aufgefüllt und 2 ml der Lsg.2 zupipettiert.

Testdurchführung:

1 ml Reaktionslösung und 0,25 ml Serum werden vermischt und 3 min stehengelassen. Anschließend werden die Extinktionen gegen die Reaktionslösung bei den Wellenlängen 546 nm und 691 nm gemessen.

Die Berechnung des Hämoglobin-Gehaltes in 100 ml Serum ergibt sich wie folgt:

$(E_{546} - E_{691}) \times 746 = \text{mg Hb}/100 \text{ ml Serum}$

4.5 PMN-Elastase

Die Bestimmung der PMN-Elastase wurde mit Reagenzien und der Laborvorschrift MERCK Immunoassay, Darmstadt, D durchgeführt.

Testprinzip:

Es handelt sich hierbei um einen heterogenen Enzymimmunoassay zur spezifischen Bestimmung der PMN-Elastase aus polymorphnucleären Leukozyten im Komplex mit PMN-Elastase- α_1 -Proteinaseinhibitor (PI).

Der in der Probe enthaltene PMN-Elastase- α_1 -PI-Komplex bindet mit dem PMN-Elastase-Teil im ersten Inkubationsschritt an die mit Antikörpern beschichtete Röhrchenwand. Der freie α_1 -PI-Teil des Komplexes wird im zweiten Inkubationsschritt an die zugegebenen mit alkalischer Phosphatase (AP) markierten Antikörper gebunden. Dann werden die nicht gebundenen markierten Antikörper ausgewaschen und die enzymatische Aktivität der gebundenen AP-markierten Antikörper photometrisch bestimmt. Die Menge an gebildetem Farbstoff ist der PMN-Elastase- α_1 -PI-Konzentration direkt proportional.

Reagenzien:

- Lsg.1-4: Kalibratoren 1-4
enthält gelatinehaltiger TRIS-Puffer 20 μ mol und einen PMN-Elastase- α_1 -PI-Komplex;
- Lsg.5: Kontrollplasma
enthält Plasma (Schaf) versetzt mit einem PMN-Elastase- α_1 -PI-Komplex;
- Lsg.6: Probenverdünnungsmedium
enthält Phosphatpuffer pH 7,5 20 mmol/l;
- Lsg.7: Waschlösung:
enthält H₂O und Detergenz;
- Lsg.8: Substratlösung:
enthält 1 Tablette AP-Substrat in 10 ml AP-Puffer gelöst

AP-Substrat:

enthält 20 µmol 4-Nitrophenylphosphat pro Tablette

AP-Puffer:

Diethanolamin pH 9,8 1mol/l, MgCl₂ 0,5mmol/l

- Lsg.9: Stopplösung:
NaOH 2 mol/l
- Lsg.10: AK-beschichtete Röhrchen
Anti-PMN-Elastase-(human)-Antikörper vom Schaf
- Lsg.11: AK-Enzym-Konjugat
Anti-α₁-PI-(human)-Antikörper vom Kaninchen gekoppelt mit AP
- Lsg.12: AK-Enzym-Konjugat-Puffer 25 ml
Enthält TRIS pH 7,5 (0,25 mmol) und MgCl₂ 0,05 mmol für die Herstellung der AK-Enzym-Lsg.

Testdurchführung:

a) Vorbereitung:

- 50 µl des Proben- sowie des Kontrollplasmas mit je 2500 µl Verdünnungsmedium verdünnen.

b) Durchführung:

- Je 1000 µl der Waschlösung (Lsg.7) in die Röhrchen geben und nach 5-20minütiger Inkubation bei 20-25°C wieder absaugen.
- Dann je 500 µl Kalibratoren, Kontrollplasma und Probenplasma zupipettieren, 60 min bei 20-25°C inkubieren und die Röhrchen anschließend waschen.
- Die gewaschenen Röhrchen werden mit jeweils 500 µl Lsg.12 versetzt.
- Nach einer Inkubationszeit von 30 min bei 20-25°C folgt erneut einWaschvorgang.
- Zugabe von je 500 µl Substratlösung und 30 min Inkubation im Dunkeln bei 20-25°C.
- Abstoppen der Reaktion mit 100 µl Stopplösung (Lsg.9).

Die Extinktionen werden bei einer Meßwellenlänge von 405 nm gemessen und die Konzentrationen der Proben an der mitgeführten Kalibrationskurve ermittelt ($\mu\text{g/l}$).

4.6 SC5b-9 (TCC=Terminal Complement Complex)

Für den Nachweis von SC5b-9-Komplexen wurde der Enzymimmunoassay SC5b-9 Komplex ELISA Kit A009 der Firma Quidel®, USA verwendet.

Testprinzip:

Bei der ersten Inkubation bildet das in der Probe vorhandene SC5b-9 mit den auf der Oberfläche der Mikrotiterplatte fixierten monoklonalen Anti-human SC5b-9 Antikörpern Komplexe. Im nachfolgenden zweiten Inkubationsschritt reagieren Meerrettich-Peroxidase konjugierte Antikörper, welche spezifisch zu SC5b-9 Antigenen sind, mit den Komplexen aus SC5b-9 und den SC5b-9-Antikörpern. Nach Auswaschen der ungebundenen Komponenten erfolgt die Zugabe von Substrat, das mit dem gebundenen Peroxidase-Konjugat reagiert. Die Intensität der durch enzymatische Reaktion entstandenen Farbe der Probe ist der Konzentration an SC5b-9 in der Probe proportional und wird photometrisch bestimmt.

Reagenzien:

- mit monoklonalen Anti-human SC5b-9 Antikörpern (Maus) beschichtete Mikrotiterstreifen
- Waschpufferkonzentrat 20xKonzentrat
Enthält PhosphatPuffer PBS, 0,05 % TWEEN und 0,01 % Thimerosal
- Standards A, B, C:
Enthält SC5b-9 in humanem Serum und 0,01 % Thimerosal
- Hoch positive Kontrolle:
Enthält SC5b-9 in humanem Plasma und 0,01 % Thimerosal
- Schwach positive Kontrolle:

- Enthält SC5b-9 in humanem Plasma und 0,01 % Thimerosal
- Probenverdünnungspuffer:
Enthält PBS, 0,05 % Tween 20 und 0,01 % Thimerosal
- Konjugat:
Enthält Anti-human SC5b-9 von der Ziege, Peroxidase-konjugiert, PBS und 0,01 % Thimerosal
- Substrat Verdünnungspuffer:
Enthält 0,1 M Citrat Puffer mit 0,05 % H₂O₂
- Substrat Konzentrat:
Enthält 0,75 2-2'-Azino-di-(3-Ethylbenzthiazol schweflige Säure) Diammonium Salz;
Kurz vor dem Gebrauch werden 50 µl Konzentrat in 1 ml Verdünnungspuffer gelöst.
- Stopplösung: 0,25 M Oxalsäure

Testdurchführung:

a) Vorbereitung:

- Alle Reagenzien auf Raumtemperatur bringen.
- Verdünnung der Plasmaproben 1:4 mit Probenverdünnungspuffer

b) Durchführung:

- Je 100 µl der vorbereitenden Proben, Kontrollen und Standards in die dafür vorgesehenen Vertiefungen pipettieren.
- Die abgedeckte Platte bei Raumtemperatur für 60 min inkubieren.
- Anschließend wird 5mal mit je 300 µl Waschpuffer-Gebrauchslösung gewaschen.
- Je 50 µl SC5b-9-Konjugat in die Vertiefungen pipettieren.
- Nun wird die abgedeckte Platte erneut 60 min bei Raumtemperatur inkubiert.
- Es folgt die Wiederholung des Waschvorgangs.
- In jede Vertiefung wird 100 µl der angesetzten Substratlösung pipettiert und die abgedeckte Platte bei Raumtemperatur für 30 min inkubiert.
- Die enzymatische Reaktion wird mit je 50 µl Stopplösung abgestoppt.

- Die optische Dichte wird bei einer Messwellenlänge von 405 nm gegen den Leerwert gemessen. Anhand der Kalibrationskurve werden die Konzentrationen in ng/ml ermittelt.

5. Statistische Auswertung der Ergebnisse

5.1 Hämatokrit-Korrektur

Um einen statistischen Vergleich der Untersuchungsparameter der verschiedenen Gruppen zu ermöglichen, wurden die zu den einzelnen Abnahmezeitpunkten gemessenen Werte jeweils mit einem sogenannten Korrekturfaktor F multipliziert, um die durch Hämodilution verursachte Verdünnung des Blutes und die damit einhergehende Veränderung der Plasmakonzentration der Parameter auszugleichen. Dieser Korrekturfaktor wurde HLM-abhängig ermittelt und wird wie folgt berechnet:

$$F = \frac{\text{Gesamtvolumen}}{\text{Probenvolumen (=Konservenvolumen)}}$$

5.2 Statistischer Vergleich

Zu den einzelnen Abnahmezeiten wurde für jeden Parameter aus den Hk-korrigierten Werten jeweils der Mittelwert und die Standardabweichung (sd) ermittelt. Zur besseren Vergleichbarkeit der Parameterwerte wurde der bei der ersten Abnahme gemessene Wert mit 100 % gleichgesetzt und die im weiteren Verlauf des Versuchs ermittelten Werte als Prozentänderung bezüglich dieses Ausgangswertes im Diagramm dargestellt. Der statistische Vergleich der verschiedenen Gruppen erfolgte zu jedem Abnahmezeitpunkt mit Hilfe des Programms Excel 2000 anhand der einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA), ebenso wie der Vergleich der einzelnen Werte innerhalb einer Gruppe mit dem jeweiligen Ausgangswert (Abnahmezeitpunkt 1). Bei einer angenommenen Irrtumswahrscheinlichkeit von $p=0,05$ zur Abschätzung der statistischen Signifikanz gilt:

$p > 0,05$: kein statistisch signifikanter Unterschied

$p < 0,05$: statistisch **signifikanter** Unterschied

$p < 0,01$: statistisch **hoch signifikanter** Unterschied

III. ERGEBNISSE

1. Thrombozyten

1.1 Vergleich der unbeschichteten Oxygenatoren mit den Bioline-Oxygenatoren:

Der statistische Vergleich dieser beiden Gruppen ergab schon nach einminütiger Rezirkulation einen hoch signifikanten Unterschied, der bis zu einer Zirkulationszeit von einer Stunde nachgewiesen werden konnte (Abb.1). Während die Thrombozytenkonzentration in der unbeschichteten Gruppe initial von $220 \pm 35 \times 10^3/\mu\text{l}$ auf $67 \pm 33 \times 10^3/\mu\text{l}$ abfiel und nach 10 Minuten einen Minimalwert von $11 \pm 12 \times 10^3/\mu\text{l}$ (4,815 % der Ausgangskonzentration) erreichte, betrug der minimale Wert in der Bioline-Gruppe $148 \pm 29 \times 10^3/\mu\text{l}$ (68,910 % des Ausgangswertes). Der Konzentrationsabfall in der unbeschichteten Gruppe war demnach deutlich massiver als in der heparinbeschichteten Gruppe.

Nach 20minütiger Rezirkulation stieg in der unbeschichteten Gruppe die Thrombozytenanzahl wieder an, jedoch konnten am Ende der Zirkulationszeit nur $29 \pm 29 \times 10^3$ Thrombozyten/ μl gezählt werden.

Innerhalb der Gruppen konnten anhand der Varianzanalyse jeweils signifikante Unterschiede festgestellt werden, die jedoch in der Gruppe der unbeschichteten Oxygenatoren im Gegensatz zur Bioline-Gruppe durchgehend hoch signifikant waren.

1.2 Vergleich der unbeschichteten Oxygenatoren mit den Safeline-Oxygenatoren:

Bei dem statistischen Vergleich der unbeschichteten mit der polypeptidbeschichteten Gruppe ergaben sich während der zweiten und dritten Abnahme hoch signifikante Unterschiede bezüglich der Thrombozytenkonzentration, die auf einem weniger starken initialen Abfall der Thrombozytenzahlen in der Safeline-Gruppe beruhten (Abb.1). Im Verlauf der Rezirkulation kam es jedoch auch bei diesen Oxygenatoren zu einer massiven Reduktion der Thrombozytenzahlen. Zum Abnahmezeitpunkt nach 20minütiger Rezirkulation konnten in der Gruppe der polypeptidbeschichteten

Oxygenatoren bei einem Ausgangswert von $291 \pm 67 \times 10^3/\mu\text{l}$ nur noch $23 \pm 8 \times 10^3$ Thrombozyten/ μl gezählt werden, was 7,867 % des Ausgangswertes entspricht (Minimalwert in der unbeschichteten Gruppe: 4,815 % der Ausgangskonzentration). Wie auch in der unbeschichteten Gruppe stieg der Thrombozytenwert in der Safeline-Gruppe nach einer halben Stunde wieder an.

Anhand der Varianzanalyse konnten innerhalb der Gruppe der Safeline-Oxygenatoren nach einer Zirkulationszeit von 5 Minuten hoch signifikante Unterschiede nachgewiesen werden.

1.3 Vergleich der Bioline-Oxygenatoren mit den Safeline-Oxygenatoren:

Hier unterschieden sich die Thrombozytenkonzentrationen zwischen dem dritten und vorletzten Abnahmezeitpunkt statistisch hoch signifikant voneinander (Abb.1). Nach einer Rezirkulationszeit von 5 Minuten zeigte sich in der Safeline-Gruppe ein deutlich stärkerer Abfall der Thrombozyten als in der Bioline-Gruppe. Zu diesem Zeitpunkt betrug die Thrombozytenkonzentration in der jeweiligen Gruppe 81 ± 29 bzw. $176 \pm 18 \times 10^3/\mu\text{l}$. Am Ende der Rezirkulation nach zwei Stunden war die Anzahl der Thrombozyten in den beiden Gruppen annähernd gleich (Safeline: $128 \pm 21 \times 10^3/\mu\text{l}$; Bioline: $148 \pm 29 \times 10^3/\mu\text{l}$).

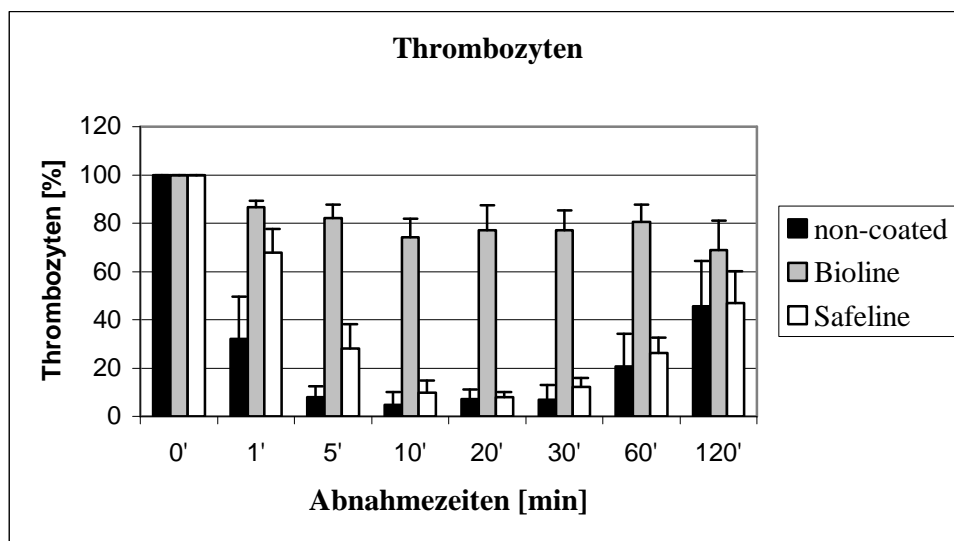


Abb.1 Verlauf der Thrombozytenzahlen während 120minütiger Rezirkulation

Abnahmezeiten [min]	n	non-coated		Bioline		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	220	35	215	16	0,8096176
1	5	67	33	186	18	0,0002109
5	5	18	11	176	18	3,894E-07
10	5	11	12	159	14	2,874E-07
20	5	17	10	165	21	1,214E-06
30	5	15	14	166	21	2,245E-06
60	5	43	95	174	22	9,468E-05
120	5	29	29	148	29	0,0308523

Tab1.1 Vergleich non-coated - Bioline

Abnahmezeiten [min]	n	non-coated		Safeline		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	220	35	291	67	0,0968113
1	5	67	33	198	52	0,0028247
5	5	18	11	81	29	0,0037176
10	5	11	12	29	15	0,1083515
20	5	17	10	23	8	0,3501187
30	5	15	14	35	12	0,0640505
60	5	43	95	74	15	0,099036
120	5	29	29	128	21	0,1006636

Tab1.2 Vergleich non-coated - Safeline

Abnahmezeiten [min]	n	Bioline		Safeline		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	215	16	291	67	0,0584049
1	5	186	18	198	52	0,6851456
5	5	176	18	81	29	0,0005544
10	5	159	14	29	15	1,478E-06
20	5	165	21	23	8	1,242E-06
30	5	166	21	35	12	4,485E-06
60	5	174	22	74	15	5,985E-05
120	5	148	29	128	21	0,2933706

Tab1.3 Vergleich Bioline - Safeline

1.4 Vergleich der Safeline-Oxygenatoren mit den heparinisierten Safeline Oxygenatoren:

Der Vergleich dieser Safeline-Oxygenatoren ergab bis zu einer Zirkulationszeit von einer halben Stunde statistisch signifikante bzw. hoch signifikante (nach 5 und 20 Minuten) Unterschiede (Abb.2). In der Gruppe der mit heparinisierte Lösung vorgespülten Oxygenatoren fiel die Thrombozytenkonzentration von einer Ausgangskonzentration von $194 \pm 46 \times 10^3/\mu\text{l}$ nach 10minütiger Rezirkulation auf einen Wert von $6 \pm 8 \times 10^3/\mu\text{l}$ (2,853 % des Ausgangswertes) ab, während in der Safeline-Gruppe ein Minimalwert von $23 \pm 8 \times 10^3/\mu\text{l}$ (7,867 % der Ausgangskonzentration) festgestellt wurde. Die Thrombozytenzahlen in der heparinisierten Gruppe fielen somit auf weniger als die Hälfte der minimalen Thrombozytenanzahl in der Safeline-Gruppe ab, stiegen aber nach zwei Stunden wieder auf einen Wert von $143 \pm 26 \times 10^3/\mu\text{l}$ an und unterschieden sich damit statistisch gesehen nicht mehr signifikant von der Konzentration der Thrombozyten in der Safeline-Gruppe.

Innerhalb der mit Heparinlösung vorgespülten Safeline-Gruppe bestanden während der einstündigen Rezirkulation statistisch signifikante bzw. hoch signifikante Unterschiede.

1.5 Vergleich der Safeline-Oxygenatoren mit den schnell gealterten Safeline-Oxygenatoren:

Der Vergleich mit den schnell gealterten Oxygenatoren zeigte schon nach 1 Minute Rezirkulation einen statistisch hoch signifikanten Unterschied, der auch noch nach einer halben Stunde festgestellt werden konnte (Abb.2). Während der Thrombozytenwert in der gealterten Safeline-Gruppe von $202 \pm 41 \times 10^3/\mu\text{l}$ nach 5 Minuten auf $9 \pm 5 \times 10^3/\mu\text{l}$ (5,008 % des Ausgangswertes) abfiel, betrug die Thrombozytenkonzentration zu derselben Zeit in der Safeline-Gruppe bei einem Ausgangswert von $291 \pm 67 \times 10^3/\mu\text{l}$ noch $81 \pm 29 \times 10^3/\mu\text{l}$ (28,096 % der Ausgangskonzentration). Nach einer Zirkulationszeit von einer halben Stunde konnte in der gealterten Gruppe ein langsamerer Anstieg der Thrombozyten-Konzentration beobachtet werden als in der Safeline-Gruppe (Safeline gealtert: $12 \pm 6 \times 10^3/\mu\text{l}$; Safeline: $35 \pm 12 \times 10^3/\mu\text{l}$). Am Ende

der Rezirkulation wurden jedoch annähernd gleiche Thrombozytenzahlen nachgewiesen (Safeline: $128 \pm 21 \times 10^3/\mu\text{l}$; Safeline gealtert: $123 \pm 27 \times 10^3/\mu\text{l}$).

Innerhalb der Gruppe der gealterten Safeline-Oxygenatoren konnte bereits nach einminütiger Rezirkulation ein statistisch hoch signifikanter Unterschied nachgewiesen werden.

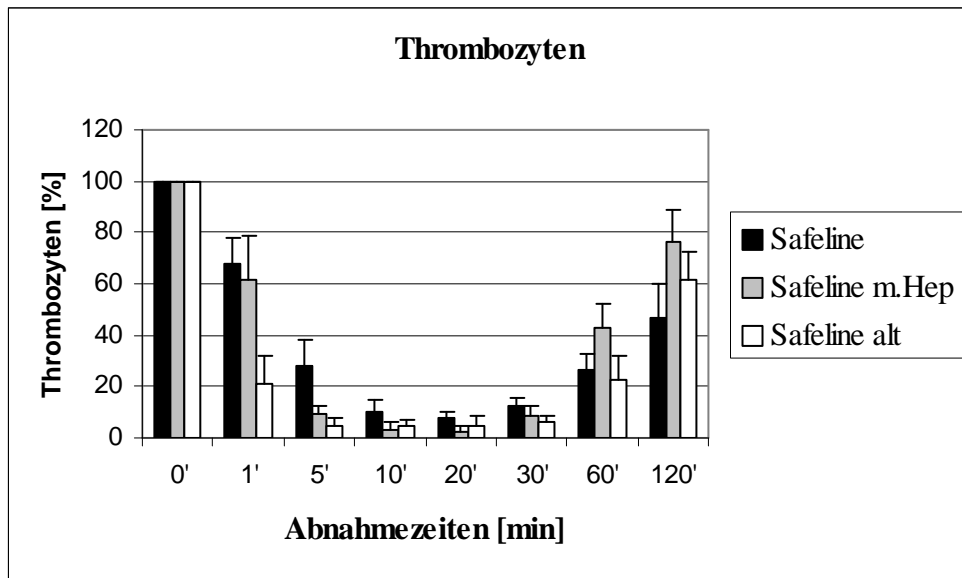


Abb.2 Verlauf der Thrombozytenzahlen während 120minütiger Rezirkulation

Abnahmezeiten [min]	n	Safeline		Safeline m.Hep		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	291	67	194	46	0,0441536
1	5	198	52	116	40	0,0369291
5	5	81	29	18	8	0,0029731
10	5	29	15	6	8	0,0280462
20	5	23	8	6	5	0,0057705
30	5	35	12	16	10	0,0396443
60	5	74	15	82	23	0,5730689
120	5	128	21	143	26	0,3867271

Tab1.4 Vergleich Safeline – Safeline mit Heparin in der Vorspüllösung

Abnahmezeiten [min]	n	Safeline		Safeline alt		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	291	67	202	41	0,052135
1	5	198	52	42	26	0,0007042
5	5	81	29	9	5	0,0012339
10	5	29	15	9	5	0,0379926
20	5	23	8	9	7	0,0320835
30	5	35	12	12	6	0,0084634
60	5	74	15	44	22	0,0594851
120	5	128	21	123	27	0,7684831

Tab1.5 Vergleich Safeline – Safeline schnell gealtert

2. β -Thromboglobulin

Die Freisetzung von β -Thromboglobulin ist ein Indikator für das Ausmaß der Thrombozytenaktivierung.

2.1 Vergleich der unbeschichteten Oxygenatoren mit den Bioline-Oxygenatoren:

Der Vergleich der heparinbeschichteten mit der unbeschichteten Gruppe zeigte schon nach 5 Minuten einen statistisch hoch signifikanten Unterschied, der bis zum letzten Abnahmezeitpunkt bestehen blieb (Abb.3). Während die β -Thromboglobulin-Konzentration bei der unbeschichteten Gruppe von $132,27 \pm 62,55$ IU/ml zum Ende der Rezirkulation auf einen Maximalwert von $5159,58 \pm 1127,87$ IU/ml (4569,742 % des Ausgangswertes) anstieg und schon nach 5 Minuten ein massiver Anstieg der β -Thromboglobulin-Werte zu erkennen war ($1462,84 \pm 671,11$ IU/ml bzw. 1383,069 % des Ausgangswertes), erreichte die β -Thromboglobulin-Konzentration in der Bioline-Gruppe nach 120 Minuten nur einen Maximalwert von $1250 \pm 261,21$ IU/ml (2157,888 % der Ausgangskonzentration).

Innerhalb der jeweiligen Gruppen zeigten sich ebenfalls signifikante Unterschiede, wobei diese in der unbeschichteten Gruppe schon nach 5 Minuten, in der Bioline-Gruppe erst nach 20 Minuten als hoch signifikant bezeichnet werden konnten und in beiden Gruppen bis zum letzten Abnahmezeitpunkt anhielten.

2.2 Vergleich der unbeschichteten Oxygenatoren mit den Safeline-Oxygenatoren:

Im Gegensatz zum Vergleich der unbeschichteten mit der heparinbeschichteten Gruppe wies der Vergleich der unbeschichteten Oxygenatoren mit den Safeline-Oxygenatoren nur zum 3. Abnahmezeitpunkt einen statistisch signifikanten Unterschied auf (Abb.3). Die β -Thromboglobulin-Konzentration in der unbeschichteten Gruppe betrug nach 5 Minuten $1462,84 \pm 671,11$ IU/ml. In der polypeptidbeschichteten Gruppe dagegen stiegen die β -Thromboglobulin-Werte weniger stark von $119,15 \pm 58,49$ IU/ml auf

646,57 ± 175,81 IU/ml (623,502 % des Ausgangswertes) an. Im weiteren Verlauf erreichte die β -Thromboglobulin-Konzentration in dieser Gruppe nach 120minütiger Rezirkulation jedoch mit 5396,84 ± 293,77 IU/ml einen der unbeschichteten Gruppe ähnlich hohen Maximalwert (5159,58 ± 1127,87 IU/ml).

Innerhalb der Safeline-Gruppe zeigten sich wie in der Gruppe mit den unbeschichteten Oxygenatoren schon nach einer Zirkulationszeit von 5 Minuten bis zum letzten Abnahmezeitpunkt statistisch hoch signifikante Unterschiede.

2.3 Vergleich der Bioline-Oxygenatoren mit den Safeline-Oxygenatoren:

Wie schon in Vergleich 2.1 festgestellt wurde, ergaben sich auch zwischen der heparinbeschichteten und der polypeptidbeschichteten Gruppe nach 5minütiger Rezirkulation statistisch hoch signifikante Unterschiede, die bis zum Ende der Zirkulationszeit anhielten (Abb.3). Während in der Safeline-Gruppe nach 5 Minuten die β -Thromboglobulin-Konzentration auf 632,502 % des Ausgangswertes anstieg, erreichten die β -Thromboglobulin-Werte in der Bioline-Gruppe nur 245,570 % der Ausgangskonzentration. Im weiteren Verlauf der Rezirkulation stiegen die β -Thromboglobulin-Werte in der heparinbeschichteten Gruppe auf einen Maximalwert an (1250,07 ± 261,21 IU/ml bzw. 2157,888 %), der weniger als die Hälfte des in der Safeline-Gruppe erreichten Maximalwertes (5396,84 ± 293,77 bzw. 5917,119 %) betrug.

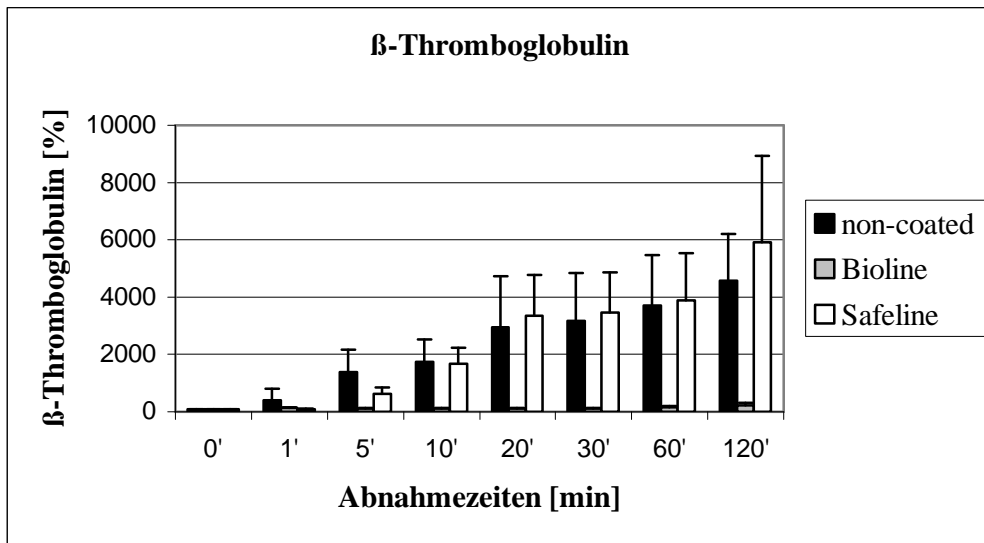


Abb.3 Verlauf der β -Thromboglobulin-Konzentrationen während 120minütiger Rezirkulation

Abnahmezeiten [min]	n	non-coated		Bioline		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	132,27	62,55	61,52	16,91	0,060506768
1	5	405,78	383,31	99,79	28,73	0,150023892
5	5	1462,84	671,11	149,4	55,92	0,004539895
10	5	1971,33	624,37	253,5	124,59	0,000648913
20	5	3405,27	1586,76	386,94	157,66	0,005344051
30	5	3711,51	1550,83	432,57	148,17	0,002958039
60	5	4232,97	1575,97	619,23	163,62	0,001846212
120	5	5159,58	1127,87	1250,07	261,21	0,000144489

Tab2.1 Vergleich non-coated – Bioline

Abnahmezeiten [min]	n	non-coated		Safeline		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	132,27	62,55	119,15	58,49	0,767152131
1	5	405,78	383,31	103,22	30,63	0,154207599
5	5	1462,84	671,11	646,57	175,81	0,046449311
10	5	1971,33	624,37	1682,83	297	0,428193573
20	5	3405,27	1586,76	3182,78	343,68	0,790961396
30	5	3711,51	1550,83	3307,18	343,32	0,624417652
60	5	4232,97	1575,97	3691,18	363,08	0,521722121
120	5	5159,58	1127,87	5396,84	293,77	0,694581857

Tab2.2 Vergleich non-coated – Safeline

Abnahmezeiten [min]	n	Bioline		Safeline		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	61,52	16,91	119,15	58,49	0,094984833
1	5	99,79	28,73	103,22	30,63	0,874369044
5	5	149,4	55,92	646,57	175,81	0,00065409
10	5	253,5	124,59	1682,83	297	2,05209E-05
20	5	386,94	157,66	3182,78	343,68	3,1814E-07
30	5	432,57	148,17	3307,18	343,32	3,1814E-07
60	5	619,23	163,62	3691,18	363,08	3,09842E-07
120	5	1250,07	261,21	5396,84	293,77	2,67633E-08

Tab2.3 Vergleich Bioline - Safeline

2.4 Vergleich der Safeline-Oxygenatoren mit den heparinisierten Safeline Oxygenatoren:

Der statistische Vergleich dieser Gruppen ergab keine signifikanten Unterschiede (Abb.4). Während die β -Thromboglobulin-Konzentration in der Safeline-Gruppe nach 120 Minuten von $119,15 \pm 58,49$ IU/ml auf einen Maximalwert von $5396,84 \pm 293,77$ IU/ml (5917,119 %) anstieg, erreichte die Safeline-Gruppe mit dem Heparinzusatz bei einem Ausgangswert von $145,7 \pm 97,45$ IU/ml nach 120minütiger Rezirkulation einen Wert von $4889,57 \pm 609,52$ IU/ml (4824,414 %).

Innerhalb der mit der heparinhaltigen Lösung vorgespülten Safeline-Gruppe zeigten sich wie in der anderen Safeline-Gruppe nach 5minütiger Rezirkulation statistisch hoch signifikante Unterschiede.

2.5 Vergleich der Safeline-Oxygenatoren mit den schnell gealterten Safeline-Oxygenatoren:

Die β -Thromboglobulin-Konzentration in der Gruppe mit den schnell gealterten Oxygenatoren stieg schon nach einer Zirkulationszeit von 5 Minuten von $92,31 \pm 95,13$ IU/ml auf $993,5 \pm 227,9$ IU/ml bzw. 1877,466 % des Ausgangswertes an, während die β -Thromboglobulin-Konzentration in der Safeline-Gruppe zu diesem Zeitpunkt nur $646,57 \pm 175,81$ IU/ml bzw. 632,502 % des Ausgangswertes betrug (Abb.4). Statistisch zeigte sich nach dieser Zeit der Rezirkulation ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen, der ab dem Abnahmezeitpunkt nach 20 Minuten als hoch signifikant bezeichnet werden konnte. Hier betrug die β -Thromboglobulin-Konzentration bei den gealterten Oxygenatoren 4692,165 % und bei den Safeline-Oxygenatoren 3353,652 % des Ausgangswertes. Nach einer Zirkulationszeit von 60 Minuten konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede mehr festgestellt werden.

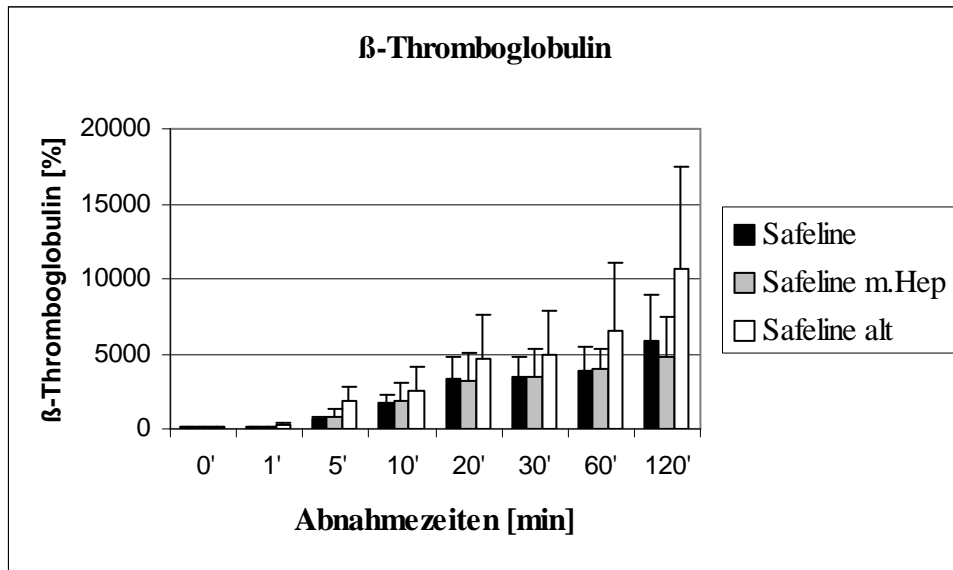


Abb.4 Verlauf der β -Thrombulin-Konzentrationen während 120minütiger Rezirkulation

Abnahmezeiten [min]	n	Safeline		Safeline m.Hep		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	119,15	58,49	145,7	97,45	0,652840993
1	5	103,22	30,63	141,09	44,91	0,200995938
5	5	646,57	175,81	867,34	294,84	0,234333881
10	5	1682,83	297	1912,52	507,88	0,457395476
20	5	3182,78	343,68	3362,74	638,67	0,633050505
30	5	3307,18	343,32	3544,01	470,31	0,439494238
60	5	3691,18	363,08	4211,07	580,56	0,167376476
120	5	5396,84	293,77	4889,57	609,52	0,172153628

Tab2.4 Vergleich Safeline – Safeline mit Heparin

Abnahmezeiten [min]	n	Safeline		Safeline alt		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	119,15	58,49	92,31	95,13	0,64142184
1	5	103,22	30,63	226,11	128,63	0,166668584
5	5	646,57	175,81	993,5	227,9	0,042466171
10	5	1682,83	297	1247,15	150,89	0,030856635
20	5	3182,78	343,68	2265,38	325,2	0,004689271
30	5	3307,18	343,32	2340,23	322,33	0,003406428
60	5	3691,18	363,08	3005,79	1213,54	0,310705652
120	5	5396,84	293,77	5081,05	540,31	0,334488077

Tab2.5 Vergleich Safeline – Safeline schnell gealtert

3. TAT

Die Konzentration an gebildetem TAT-Komplex reflektiert das Ausmaß der intravasalen Thrombinbildung und somit das Ausmaß der Gerinnungsaktivierung.

3.1 Vergleich der unbeschichteten Oxygenatoren mit den Bioline-Oxygenatoren:

Nachdem in der unbeschichteten Gruppe die TAT-Konzentration nach einer Zirkulationszeit von 120 Minuten zunächst auf einen Wert von $9,12 \pm 4,948 \mu\text{g/l}$ bei einem Ausgangswert von $10,762 \pm 6,006 \mu\text{g/l}$ abfiel, stieg die Konzentration des TAT bis zum Ende der Rezirkulation auf $12,62 \pm 5,799 \mu\text{g/l}$ bzw. 122,583 % des Ausgangswertes an (Abb.5).

In der Bioline-Gruppe konnte nach 120 Minuten ein Konzentrationsanstieg von $5,762 \pm 1,284 \mu\text{g/l}$ auf 222,811 % des Ausgangswertes beobachtet werden. Die TAT-Konzentration betrug somit am Ende der Rezirkulation $11,934 \pm 4 \mu\text{g/l}$. Während der gesamten Zirkulationszeit bestand statistisch gesehen kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

Innerhalb der Gruppe der heparinbeschichteten Oxygenatoren konnte im Gegensatz zur unbeschichteten Gruppe nach einstündiger Rezirkulation bis zur letzten Abnahme ein statistisch signifikanter Unterschied nachgewiesen werden.

3.2 Vergleich der unbeschichteten Oxygenatoren mit den Safeline-Oxygenatoren:

Auch der Vergleich der unbeschichteten Gruppe mit der Gruppe der polypeptidbeschichteten Oxygenatoren ergab anhand der Varianzanalyse keinen statistisch signifikanten Unterschied (Abb.5). In der Safeline-Gruppe fiel die TAT-Konzentration ähnlich wie in der unbeschichteten Gruppe nach 5minütiger Rezirkulation von $5,118 \pm 0,914 \mu\text{g/l}$ auf $4,503 \pm 0,811 \mu\text{g/l}$ ab, stieg dann aber wieder an und erreichte am Ende der Zirkulationszeit einen Wert von $6,514 \pm 1,174 \mu\text{g/l}$ bzw. 129,519 % des Ausgangswertes.

3.3 Vergleich der Bioline-Oxygenatoren mit den Safeline-Oxygenatoren:

Bei dem Vergleich der Bioline- mit der Safeline-Gruppe konnte schon zum ersten und zweiten Abnahmezeitpunkt ein statistisch signifikanter Unterschied nachgewiesen werden. Während der TAT-Wert nach einer Zirkulationszeit von 5 Minuten in der Bioline-Gruppe auf 116,659 % anstieg, betrug die TAT-Konzentration in der Gruppe der Safeline-Oxygenatoren zu diesem Zeitpunkt nur noch 92,12 % des Ausgangswertes (Abb.5). Nach 120minütiger Rezirkulation stieg der TAT-Wert in der Safeline-Gruppe mit $6,514 \pm 1,174 \mu\text{g/l}$ auf etwas mehr als die Hälfte des TAT-Wertes in der Bioline-Gruppe ($11,934 \pm 4 \mu\text{g/l}$) an. Auch zu diesem Zeitpunkt konnte anhand der Varianzanalyse ein statistisch signifikanter Unterschied ermittelt werden.

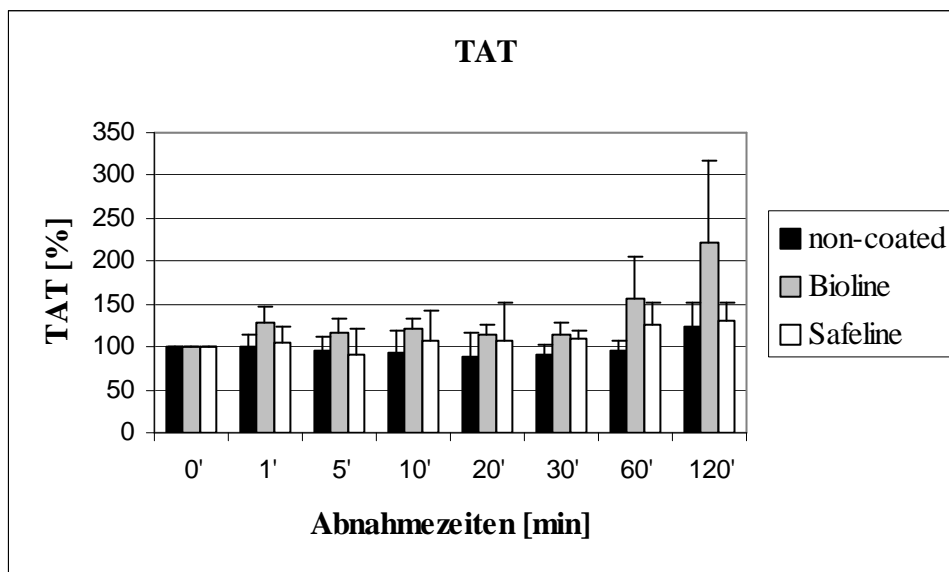


Abb.5 Verlauf der TAT-Konzentrationen während 120minütiger Rezirkulation

Abnahmezeiten [min]	n	non-coated		Bioline		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	10,762	6,006	5,762	1,284	0,1421457
1	5	10,952	6,513	7,192	1,231	0,2893669
5	5	10,068	5,855	6,72	1,72	0,3044804
10	5	9,73	5,385	6,946	1,329	0,3447595
20	5	9,12	4,948	6,472	1,309	0,3310509
30	5	9,681	5,83	6,41	1,002	0,3008026
60	5	10,33	5,971	8,485	1,913	0,5724414
120	5	12,62	5,799	11,934	4	0,850346

Tab3.1 Vergleich non-coated - Bioline

Abnahmezeiten [min]	n	non-coated		Safeline		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	10,762	6,006	5,118	0,914	0,1002219
1	5	10,952	6,513	5,271	0,676	0,1209135
5	5	10,068	5,855	4,503	0,811	0,0964727
10	5	9,73	5,385	5,22	0,746	0,1356219
20	5	9,12	4,948	5,112	1,243	0,154787
30	5	9,681	5,83	5,478	0,695	0,1900153
60	5	10,33	5,971	6,349	1,358	0,229741
120	5	12,62	5,799	6,514	1,174	0,0728756

Tab3.2 Vergleich non-coated - Safeline

Abnahmezeiten [min]	n	Bioline		Safeline		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	5,762	1,284	5,118	0,914	0,4372801
1	5	7,192	1,231	5,271	0,676	0,0256644
5	5	6,72	1,72	4,503	0,811	0,0480376
10	5	6,946	1,329	5,22	0,746	0,0532651
20	5	6,472	1,309	5,112	1,243	0,1704142
30	5	6,41	1,002	5,478	0,695	0,1647897
60	5	8,485	1,913	6,349	1,358	0,1061521
120	5	11,934	4	6,514	1,174	0,0315929

Tab3.3 Vergleich Bioline - Safeline

3.4 Vergleich der Safeline-Oxygenatoren mit den heparinisierten Safeline Oxygenatoren:

Zum ersten und zweiten Abnahmezeitpunkt bestand zwischen diesen beiden Gruppen statistisch gesehen ein signifikanter Unterschied (Abb.6). In der mit der Heparinlösung vorgespülten Safeline-Gruppe stieg die TAT-Konzentration von $7,613 \pm 1,652 \mu\text{g/l}$ auf $8,005 \pm 1,935 \mu\text{g/l}$ an, während in der Safeline-Gruppe die Ausgangskonzentration des TAT mit $5,118 \pm 0,914 \mu\text{g/l}$ geringer war und auf einen Wert von $5,271 \pm 0,676 \mu\text{g/l}$ anstieg.

3.5 Vergleich der Safeline-Oxygenatoren mit den schnell gealterten Safeline-Oxygenatoren:

Bei dem Vergleich mit den schnell gealterten Oxygenatoren ergab sich während der gesamten Zirkulationszeit kein statistisch signifikanter Unterschied (Abb.6). Die TAT-Konzentration in der Gruppe der gealterten Oxygenatoren betrug zu Beginn $13,777 \pm 17,43 \mu\text{g/l}$ und stieg dann bis zum Zirkulationsende auf $110,237 \%$ des Ausgangswertes bzw. $11,317 \pm 11,52 \mu\text{g/l}$ an.

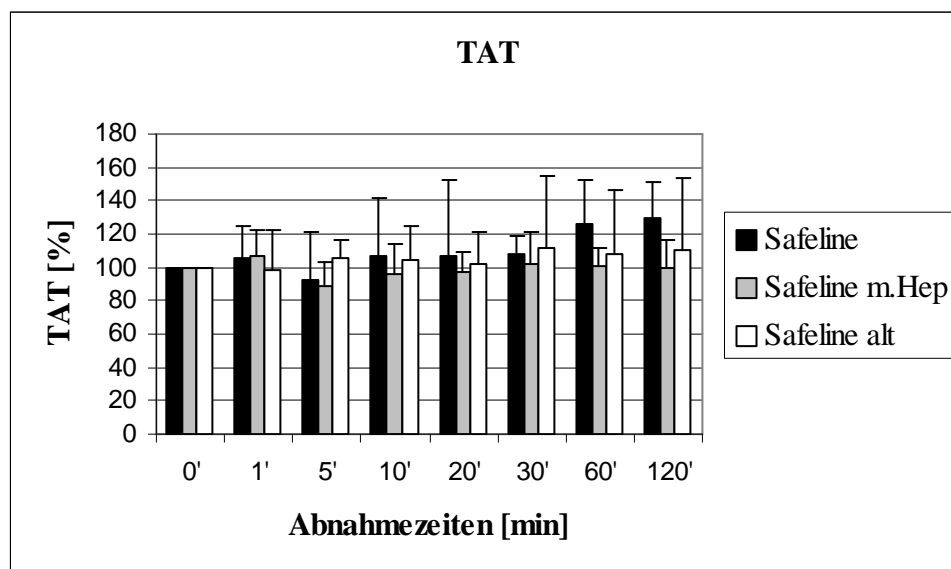


Abb.6 Verlauf der TAT-Konzentrationen während 120minütiger Rezirkulation

Abnahmezeiten [min]	n	Safeline		Safeline m.Hep		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	5,118	0,914	7,613	1,652	0,0295831
1	5	5,271	0,676	8,005	1,935	0,0284625
5	5	4,503	0,811	6,778	2,106	0,0785277
10	5	5,22	0,746	7,448	2,505	0,12667
20	5	5,112	1,243	7,429	2,075	0,0916071
30	5	5,478	0,695	7,671	2,165	0,0898553
60	5	6,349	1,358	7,842	2,311	0,2975138
120	5	6,514	1,174	7,644	2,239	0,3971195

Tab3.4 Vergleich Safeline – Safeline mit Heparin

Abnahmezeiten [min]	n	Safeline		Safeline alt		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	5,118	0,914	13,777	17,43	0,3501166
1	5	5,271	0,676	13,078	16,261	0,3654826
5	5	4,503	0,811	13,133	15,388	0,2951952
10	5	5,22	0,746	12,044	13,38	0,3382609
20	5	5,112	1,243	13,887	18,064	0,3607789
30	5	5,478	0,695	12,89	14,921	0,3500555
60	5	6,349	1,358	12,129	13,339	0,41363
120	5	6,514	1,174	11,317	11,52	0,4308496

Tab3.5 Vergleich Safeline – Safeline schnell gealtert

4. Hämolyse

Die Konzentration an freiem Hämoglobin im Plasma spiegelt das Ausmaß der Hämolyse wider.

4.1 Vergleich der unbeschichteten Oxygenatoren mit den Bioline-Oxygenatoren:

Beim Vergleich der unbeschichteten mit der heparinbeschichteten Gruppe konnte kein statistisch signifikanter Unterschied nachgewiesen werden (Abb.7). Die Konzentration des freien Hämoglobins im Plasma stieg in der Gruppe der unbeschichteten Oxygenatoren von $26,11 \pm 7,83$ mg/dl nach 120minütiger Rezirkulation auf einen Maximalwert von $101,85 \pm 121,14$ mg/dl bzw. 355,394 % des Ausgangswertes an, nachdem es initial zu einem leichten Abfall der Hämoglobinkonzentration auf $15,79 \pm 7,17$ mg/dl gekommen war. In der heparinbeschichteten Gruppe fiel der Hämoglobinwert ebenfalls initial von einer Konzentration von $18,532 \pm 2,141$ mg/dl auf einen Wert von $9,816 \pm 2,378$ mg/dl ab und erreichte bis zum Ende der Zirkulationszeit einen maximalen Wert von $31,644 \pm 14,824$ mg/dl bzw. 176,801 % des Ausgangswertes.

Innerhalb der Gruppe der Bioline-Oxygenatoren konnte im Gegensatz zur unbeschichteten Gruppe von der ersten bis zur vorletzten Abnahme ein statistisch hoch signifikanter Unterschied festgestellt werden.

4.2 Vergleich der unbeschichteten Oxygenatoren mit den Safeline-Oxygenatoren:

Auch der Vergleich der unbeschichteten Gruppe mit den polypeptidbeschichteten Oxygenatoren zeigte statistisch gesehen keinen signifikanten Unterschied (Abb.7). Der Hämoglobin-Wert in der Safeline-Gruppe stieg von $106,38 \pm 128,64$ mg/dl auf einen Maximalwert von $238,63 \pm 106,92$ mg/dl (602,226 % der Ausgangskonzentration) an. Initial fiel die Konzentration des freien Hämoglobins in beiden Gruppen in ähnlichem

Ausmaß ab (non-coated: 57,904 %; Safeline: 59,659 %) und stieg dann nach einer Zirkulationszeit von 5 Minuten wieder stetig an.

Innerhalb der Safeline-Gruppe konnte wie auch in der Gruppe der unbeschichteten Oxygenatoren kein signifikanter Unterschied anhand der Varianzanalyse ermittelt werden.

4.3 Vergleich der Bioline-Oxygenatoren mit den Safeline-Oxygenatoren:

Der Vergleich dieser beiden Gruppen ergab nach einer Zirkulationszeit von 120 Minuten einen statistisch signifikanten Unterschied (Abb.7). Während der Hämoglobinwert nach dieser Zeit in der Bioline-Gruppe nur auf 176,801 % des Ausgangswertes anstieg, konnte in der Safeline-Gruppe ein Konzentrationsanstieg auf 602,226 % des Ausgangswertes nachgewiesen werden. Somit war nach dieser Zeit der Rezirkulation das Ausmaß der Hämolyse in der Gruppe der Safeline-Oxygenatoren um mehr als die Hälfte größer als in der heparinbeschichteten Gruppe.

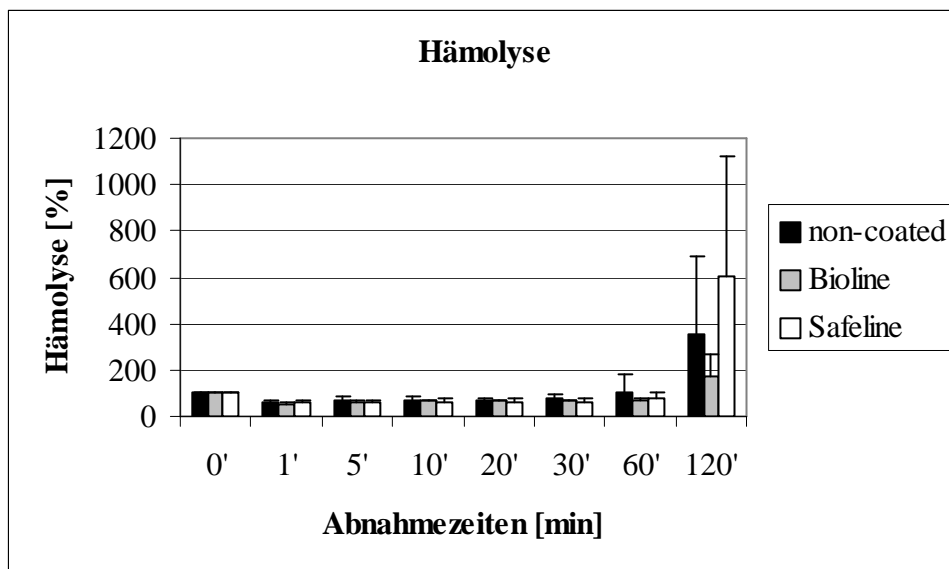


Abb.7 Verlauf der Hämoglobinwerte während 120minütiger Rezirkulation

Abnahmezeiten [min]	n	non-coated		Bioline		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	26,11	7,83	18,352	2,141	0,0921826
1	5	15,79	7,17	9,816	2,378	0,1524853
5	5	17,39	7,16	10,971	1,281	0,1157288
10	5	17,85	7,03	12,084	1,247	0,1448386
20	5	18,31	6,93	12,084	1,247	0,115167
30	5	21,07	11,1	15,543	1,361	0,166004
60	5	31,17	30,31	12,773	1,257	0,2597391
120	5	101,85	121,14	31,644	14,824	0,2831632

Tab4.1 Vergleich non-coated - Bioline

Abnahmezeiten [min]	n	non-coated		Safeline		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	26,11	7,83	106,38	128,64	0,2481295
1	5	15,79	7,17	55,72	56,38	0,1976067
5	5	17,39	7,16	55,26	55,56	0,2133607
10	5	17,85	7,03	56,72	56,83	0,2115997
20	5	18,31	6,93	57,16	57,64	0,217611
30	5	21,07	11,1	57,41	57,47	0,2493905
60	5	31,17	30,31	60,97	54,94	0,3700042
120	5	101,85	121,14	238,63	106,92	0,1288918

Tab4.2 Vergleich non-coated - Safeline

Abnahmezeiten [min]	n	Bioline		Safeline		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	18,352	2,141	106,38	128,64	0,2083808
1	5	9,816	2,378	55,72	56,38	0,1424198
5	5	10,971	1,281	55,26	55,56	0,1496512
10	5	12,084	1,247	56,72	56,83	0,1549243
20	5	12,084	1,247	57,16	57,64	0,1565569
30	5	15,543	1,361	57,41	57,47	0,1571011
60	5	12,773	1,257	60,97	54,94	0,1174613
120	5	31,644	14,824	238,63	106,92	0,0049816

Tab4.3 Vergleich Bioline – Safeline

4.4 Vergleich der Safeline-Oxygenatoren mit den heparinisierten Safeline Oxygenatoren:

Die Konzentration an freiem Hämoglobin stieg in der Gruppe der mit heparinisierten Lösung vorgespülten Safeline-Oxygenatoren von $22,08 \pm 3,61$ mg/dl auf einen Wert von $193,6 \pm 60,1$ mg/dl bzw. 862,105 % des Ausgangswertes an (Abb.8). Wie in den oben beschriebenen Gruppen fiel auch in dieser Gruppe die Hämoglobin-Konzentration initial ab und stieg jedoch erst nach einer Rezirkulationszeit von 60 Minuten wieder an. Zwischen diesen Safeline-Oxygenatoren wurde anhand der Varianzanalyse kein signifikanter Unterschied nachgewiesen.

Der Vergleich zwischen den einzelnen Abnahmezeiten innerhalb der heparinisierten Safeline-Gruppe ergab wie in der Bioline-Gruppe einen statistisch hoch signifikanten Unterschied, der bis zum Ende der Zirkulationszeit nachgewiesen werden konnte.

4.5 Vergleich der Safeline-Oxygenatoren mit den schnell gealterten Safeline-Oxygenatoren:

In der Gruppe der gealterten Safeline-Oxygenatoren erreichte die Hämoglobin-Konzentration einen Maximalwert von $71,31 \pm 56,98$ mg/dl bzw. 263,342 % des Ausgangswertes (Abb.8). Der Hämoglobinwert stieg somit in dieser Gruppe nach 120minütiger Rezirkulation auf weniger als die Hälfte des maximalen Wertes in der Safeline-Gruppe (602,226 % der Ausgangskonzentration) an. Zu diesem Zeitpunkt bestand auch statistisch gesehen ein signifikanter Unterschied.

Wie in allen anderen Gruppen fiel auch in der gealterten Safeline-Gruppe die Hämoglobin-Konzentration initial ab und stieg nach der dritten Abnahme wieder stetig an. Innerhalb dieser Gruppe konnte kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden.

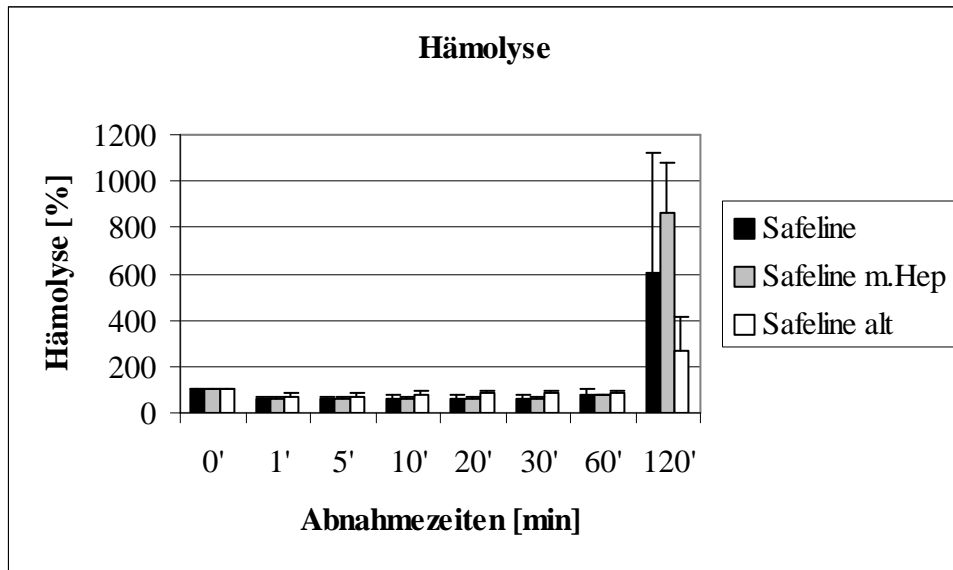


Abb.8 Verlauf der Hämoglobinwerte während 120minütiger Rezirkulation

Abnahmezeiten [min]	n	Safeline		Safeline m.Hep		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	106,38	128,64	22,08	3,61	0,2265345
1	5	55,72	56,38	13,89	2,26	0,1764327
5	5	55,26	55,56	13,89	2,26	0,1750655
10	5	56,72	56,83	13,63	2,18	0,168171
20	5	57,16	57,64	13,63	2,18	0,1697298
30	5	57,41	57,47	13,63	2,18	0,1663645
60	5	60,97	54,94	16,47	3,16	0,1444476
120	5	238,63	106,92	193,6	60,1	0,4837418

Tab4.4 Vergleich Safeline – Safeline mit Heparin

Abnahmezeiten [min]	n	Safeline		Safeline alt		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	106,38	128,64	24,62	9,29	0,2405018
1	5	55,72	56,38	16,72	6,29	0,2064109
5	5	55,26	55,56	17,44	6,25	0,2131605
10	5	56,72	56,83	19,14	6,86	0,225593
20	5	57,16	57,64	20,24	7,81	0,2400226
30	5	57,41	57,47	20,52	8,13	0,2392593
60	5	60,97	54,94	20,52	8,13	0,1832094
120	5	238,63	106,92	71,32	56,98	0,0246014

Tab4.5 Vergleich Safeline – Safeline schnell gealtert

5. Leukozyten

5.1 Vergleich der unbeschichteten Oxygenatoren mit den Bioline-Oxygenatoren:

Während die Leukozytenkonzentration in der unbeschichteten Gruppe von $4,9 \pm 0,7 \times 10^3/\mu\text{l}$ auf einen Wert von $1,9 \pm 0,5 \times 10^3/\mu\text{l}$ abfiel und somit nur noch 39,652 % des Ausgangswertes betrug, konnte in der Gruppe der heparinbeschichteten Oxygenatoren ein geringerer Abfall der Leukozytenanzahl festgestellt werden (Abb.9). Hier sank die Anzahl der Leukozyten von $5,1 \pm 1,6 \times 10^3/\mu\text{l}$ auf $3,3 \pm 1,2 \times 10^3/\mu\text{l}$ ab und betrug somit noch 62,966 % der Anfangskonzentration. Der statistische Vergleich der beiden Gruppen ergab einen signifikanten Unterschied nach einer Zirkulationszeit von einer halben Stunde. Zu diesem Zeitpunkt konnten in der unbeschichteten Gruppe $2,4 \pm 0,8 \times 10^3$ und in der Bioline-Gruppe $4,4 \pm 1,5 \times 10^3$ Leukozyten/ μl gezählt werden.

Innerhalb der heparinbeschichteten Gruppe konnte im Gegensatz zur Gruppe mit den unbeschichteten Oxygenatoren, bei der nach 10minütiger Rezirkulation ein signifikanter Unterschied bestand, keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

5.2 Vergleich der unbeschichteten Oxygenatoren mit den Safeline-Oxygenatoren:

Wie in der Bioline-Gruppe fiel die Leukozytenkonzentration in der Safeline-Gruppe im Vergleich zur unbeschichteten Gruppe langsamer ab als in der unbeschichteten Gruppe (Abb.9). Nach sowohl 30- als auch 60minütiger Rezirkulation konnte hier ein statistisch hoch signifikanter Unterschied nachgewiesen werden. Die Anzahl der Leukozyten verringerte sich zu diesen Zeiten in der Safeline-Gruppe bei einem Ausgangswert von $5,4 \pm 0,8 \times 10^3/\mu\text{l}$ auf einen Wert von $4,1 \pm 0,7 \times 10^3/\mu\text{l}$ bzw. $3,7 \pm 0,6 \times 10^3/\mu\text{l}$ (non-coated: $2,4 \pm 0,8 \times 10^3/\mu\text{l}$ bzw. $2,2 \pm 0,4 \times 10^3/\mu\text{l}$).

Zwischen den einzelnen Abnahmezeiten innerhalb der polypeptidbeschichteten Gruppe bestand nach halbstündiger Rezirkulation bis zum Schluss ein signifikanter Unterschied.

5.3 Vergleich der Bioline-Oxygenatoren mit den Safeline-Oxygenatoren:

Der Vergleich dieser beiden Gruppen ergab statistisch gesehen keine signifikanten Unterschiede (Abb.9). Jedoch konnte man innerhalb der Bioline-Gruppe vor allem nach 120 Minuten einen im Vergleich zur Safeline-Gruppe geringeren Konzentrationsabfall der Leukozyten beobachten.

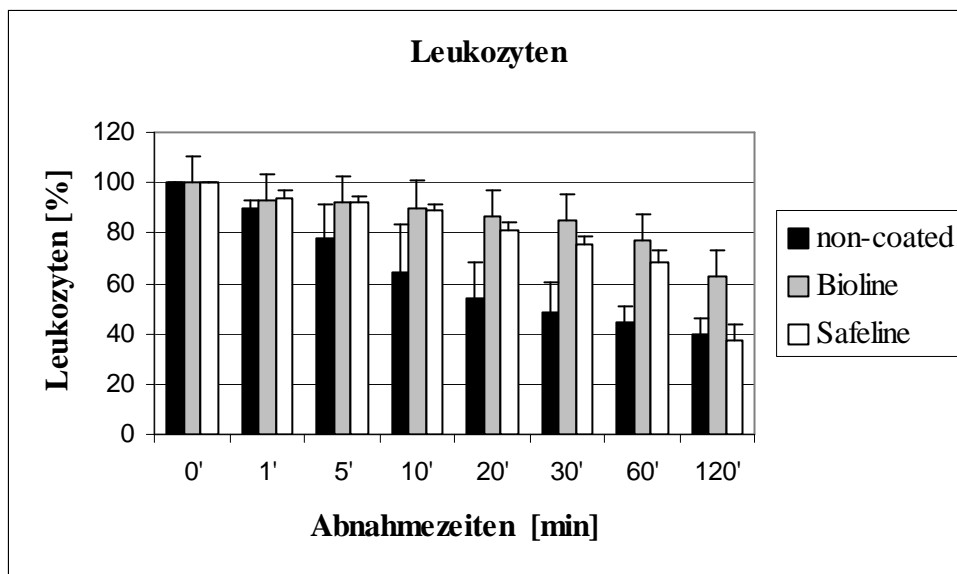


Abb.9 Verlauf der Leukozytenzahlen während 120minütiger Rezirkulation

Abnahmezeiten [min]	n	non-coated		Bioline		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	4,9	0,7	5,1	1,6	0,7549338
1	5	4,4	0,6	4,8	1,7	0,6416259
5	5	3,8	0,9	4,8	1,7	0,3346815
10	5	3,2	1,2	4,7	1,5	0,1728498
20	5	2,6	0,9	4,5	1,7	0,0826901
30	5	2,4	0,8	4,4	1,5	0,046164
60	5	2,2	0,4	4,1	1,7	0,0635666
120	5	1,9	0,5	3,3	1,2	0,0749072

Tab5.1 Vergleich non-coated - Bioline

Abnahmezeiten [min]	n	non-coated		Safeline		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	4,9	0,7	5,4	0,8	0,3142511
1	5	4,4	0,6	5,1	0,9	0,2253811
5	5	3,8	0,9	5	0,8	0,0824153
10	5	3,2	1,2	4,8	0,8	0,0528261
20	5	2,6	0,9	4,4	0,7	0,0167803
30	5	2,4	0,8	4,1	0,7	0,009933
60	5	2,2	0,4	3,7	0,6	0,0040528
120	5	1,9	0,5	2	0,2	0,8889472

Tab5.2 Vergleich non-coated - Safeline

Abnahmezeiten [min]	n	Bioline		Safeline		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	5,1	1,6	5,4	0,8	0,7625347
1	5	4,8	1,7	5,1	0,9	0,7784036
5	5	4,8	1,7	5	0,8	0,8524843
10	5	4,7	1,5	4,8	0,8	0,842312
20	5	4,5	1,7	4,4	0,7	0,8974363
30	5	4,4	1,5	4,1	0,7	0,7105799
60	5	4,1	1,7	3,7	0,6	0,6781387
120	5	3,3	1,2	2	0,2	0,0661763

Tab5.3 Vergleich Bioline - Safeline

5.4 Vergleich der Safeline-Oxygenatoren mit den heparinisierten Safeline Oxygenatoren:

Im Vergleich zur Safeline-Gruppe fiel die Leukozytenkonzentration in der mit Heparinlösung vorgespülten Safeline-Gruppe deutlich schneller ab, was statistisch gesehen zu einem signifikanten Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen führte (Abb.10).

Während die Anzahl der Leukozyten bei den heparinisierten Safeline-Oxygenatoren innerhalb von 20 Minuten von $5,1 \pm 0,5 \times 10^3/\mu\text{l}$ auf einen Wert von $2,8 \pm 0,5 \times 10^3/\mu\text{l}$ abfiel, betrug die Konzentration der Leukozyten in der Safeline-Gruppe zu diesem Zeitpunkt noch $4,4 \pm 0,7 \times 10^3/\mu\text{l}$. Nach 120minütiger Rezirkulation konnte jedoch zwischen den beiden Gruppen kaum ein Konzentrationsunterschied ausgemacht werden (Safeline: $2 \pm 0,2 \times 10^3/\mu\text{l}$; Safeline +Hep: $1,8 \pm 0,4 \times 10^3/\mu\text{l}$).

Der statistische Vergleich innerhalb der mit Heparin vorgespülten Safeline-Gruppe ergab nach 10minütiger Rezirkulation hoch signifikante Unterschiede.

5.5 Vergleich der Safeline-Oxygenatoren mit den schnell gealterten Safeline-Oxygenatoren:

Hier fiel die Leukozyten-Konzentration in der gealterten Safeline-Gruppe ebenfalls schneller ab als in der Safeline-Gruppe, die Minimalwerte nach der Gesamtzirkulationszeit von 120 Minuten waren jedoch annähernd gleich (Safeline: $2 \pm 0,2 \times 10^3/\mu\text{l}$; Safeline gealtert: $1,7 \pm 0,2 \times 10^3/\mu\text{l}$). Statistisch gesehen ergab sich aufgrund des schnelleren Konzentrationsabfalls der Leukozyten in der Gruppe der gealterten Oxygenatoren im Vergleich zur Safeline-Gruppe ein hoch signifikanter Unterschied vom vierten bis zum siebten Abnahmezeitpunkt (Abb.10).

Innerhalb der gealterten Gruppe zeigte sich nach 5 Minuten ein statistisch signifikanter Unterschied, der bis zum Ende bestehen blieb.

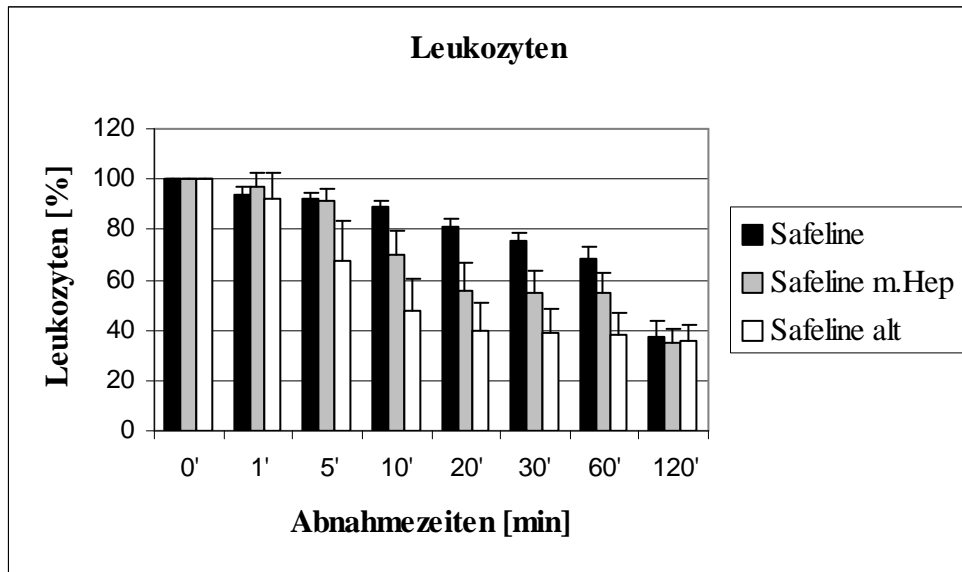


Abb.10 Verlauf der Leukozytenzahlen während 120minütiger Rezirkulation

Abnahmezeiten [min]	n	Safeline		Safeline m.Hep		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	5,4	0,8	5,1	0,5	0,5428052
1	5	5,1	0,9	5	0,5	0,7938969
5	5	5	0,8	4,7	0,3	0,460009
10	5	4,8	0,8	3,5	0,4	0,0238134
20	5	4,4	0,7	2,8	0,5	0,0080397
30	5	4,1	0,7	2,8	0,4	0,0086964
60	5	3,7	0,6	2,8	0,3	0,0286951
120	5	2	0,2	1,8	0,4	0,4895271

Tab5.4 Vergleich Safeline – Safeline mit Heparin

Abnahmezeiten [min]	n	Safeline		Safeline alt		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	5,4	0,8	4,9	1,2	0,477349
1	5	5,1	0,9	4,4	0,7	0,2427318
5	5	5	0,8	3,2	0,6	0,0053992
10	5	4,8	0,8	2,2	0,4	0,0004595
20	5	4,4	0,7	1,8	0,3	0,0001819
30	5	4,1	0,7	1,8	0,3	0,0002293
60	5	3,7	0,6	1,8	0,3	0,000538
120	5	2	0,2	1,7	0,2	0,0766362

Tab5.5 Vergleich Safeline – Safeline schnell gealtert

6. PMN-Elastase

Die PMN-Elastase ist ein proteolytisches Enzym, das aus den azurophilen Granula von polymorphkernigen Granulozyten bei deren Aktivierung freigesetzt und somit als Marker der Leukozytenaktivierung angesehen wird.

6.1 Vergleich der unbeschichteten Oxygenatoren mit den Bioline-Oxygenatoren:

Bei der unbeschichteten Gruppe stieg der PMN-Elastase-Wert schon nach einer Zirkulationszeit von 5 Minuten von $58,57 \pm 21,07 \mu\text{g/l}$ auf eine Konzentration von $101,03 \pm 36,48 \mu\text{g/l}$ an. Zu diesem Zeitpunkt betrug die PMN-Elastase-Konzentration somit 172,222 % des Ausgangswertes (Abb.11). Im Gegensatz dazu wurde zum selben Abnahmezeitpunkt bei der heparinbeschichteten Gruppe ein PMN-Elastase-Wert von $51,14 \pm 10,85 \mu\text{g/l}$ (104,273 %) bei einem Ausgangswert von $49,03 \pm 8,75 \mu\text{g/l}$ gemessen. Statistisch gesehen bestand nach 5minütiger Rezirkulation bereits ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen. Zum 5.Abnahmezeitpunkt nach 20 Minuten konnte innerhalb der Bioline-Gruppe nur ein geringer Konzentrationsanstieg der PMN-Elastase verzeichnet werden (117,147 %), während der PMN-Elastase-Wert bei der unbeschichteten Gruppe mit 434,282 % des Ausgangswertes schon mehr als das Doppelte betrug und somit ein statistisch hoch signifikanter Unterschied festgestellt werden konnte. Erst nach einer Zirkulationszeit von 120 Minuten bestand aufgrund des Anstiegs der PMN-Elastase-Konzentration in der Bioline-Gruppe auf $496,67 \pm 268,12 \mu\text{g/l}$ kein statistisch signifikanter Unterschied mehr zwischen den un- und beschichteten Oxygenatoren.

Während der Unterschied zwischen den einzelnen Abnahmezeitpunkten innerhalb der unbeschichteten Gruppe bereits nach 10 Minuten Rezirkulation statistisch signifikant bzw. hoch signifikant war, konnte in der Gruppe der heparinbeschichteten Oxygenatoren erst nach 60 Minuten eine signifikante Differenz festgestellt werden.

6.2 Vergleich der unbeschichteten Oxygenatoren mit den Safeline-Oxygenatoren:

In den ersten 10 Minuten der Rezirkulation stieg die PMN-Elastase-Konzentration in der Safeline-Gruppe von $54,15 \pm 6,08 \mu\text{g/l}$ auf $63,83 \pm 13,52 \mu\text{g/l}$ (118,092 %) an, in der unbeschichteten Gruppe erreichte der PMN-Elastase-Wert dagegen nach derselben Zirkulationszeit einen Anstieg auf 228,381 % des Ausgangswertes ($136,81 \pm 58,35 \mu\text{g/l}$). Dieser statistisch signifikante Unterschied konnte nach 60minütiger Rezirkulation nicht mehr festgestellt werden, da der PMN-Elastase-Wert in der polypeptidbeschichteten Gruppe zu diesem Abnahmezeitpunkt auf eine Konzentration von $260,9 \pm 75,56 \mu\text{g/l}$ anstieg (non-coated: $423,51 \pm 256,34 \mu\text{g/l}$) und nach 120 Minuten mit $1149,09 \pm 334,38 \mu\text{g/l}$ den Maximalwert von $798,58 \pm 382,2 \mu\text{g/l}$ in der unbeschichteten Gruppe überschritten hatte (Abb.11).

Innerhalb der Safeline-Gruppe wurden nach 30minütiger Rezirkulation statistisch signifikante und nach 60 Minuten hoch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Abnahmezeiten festgestellt.

6.3 Vergleich der Bioline-Oxygenatoren mit den Safeline-Oxygenatoren:

Die PMN-Elastase-Konzentration stieg in der heparinbeschichteten Gruppe nach einer Zirkulationszeit von 60 Minuten von $49,03 \pm 8,75 \mu\text{g/l}$ auf $107,27 \pm 27,38 \mu\text{g/l}$ an (Abb.11). Nach dieser Zeit betrug die Konzentration der PMN-Elastase in der Safeline-Gruppe mit $260,9 \pm 75,56 \mu\text{g/l}$ mehr als das Doppelte. Es bestand somit nach einer Stunde Zirkulation ein statistisch hoch signifikanter Unterschied, der sich nach 120 Minuten immer noch als signifikant darstellte.

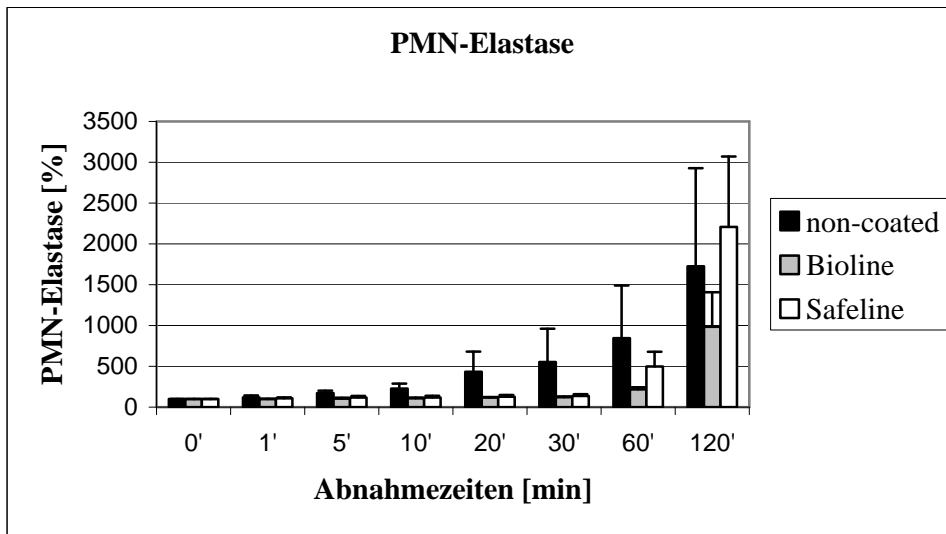


Abb.11 Verlauf der PMN-Elastase-Konzentrationen während 120minütiger Rezirkulation

Abnahmezeiten [min]	n	non-coated		Bioline		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	58,57	21,07	49,03	8,75	0,4274747
1	5	69,41	23,79	48,09	9,85	0,1361827
5	5	101,03	36,48	51,14	10,85	0,030561
10	5	136,81	58,35	53,36	11,62	0,0230081
20	5	236,78	103,39	57,26	9,5	0,0085922
30	5	292,71	167,46	59,9	10,98	0,024133
60	5	423,51	256,34	107,27	27,38	0,0397249
120	5	798,58	383,2	496,67	268,12	0,2327266

Tab6.1 Vergleich non-coated – Bioline

Abnahmezeiten [min]	n	non-coated		Safeline		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	58,57	21,07	54,15	6,08	0,697516
1	5	69,41	23,79	58,14	5,22	0,3814568
5	5	101,03	36,48	63,41	11,95	0,0856726
10	5	136,81	58,35	63,83	13,52	0,0407558
20	5	236,78	103,39	69,26	12,74	0,01231
30	5	292,71	167,46	74,85	14,39	0,031999
60	5	423,51	256,34	260,9	75,56	0,2582973
120	5	798,58	383,2	1149,09	334,38	0,2053911

Tab6.2 Vergleich non-coated – Safeline

Abnahmezeiten [min]	n	Bioline		Safeline		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	49,03	8,75	54,15	6,08	0,1090672
1	5	48,09	9,85	58,14	5,22	0,1090672
5	5	51,14	10,85	63,41	11,95	0,1667775
10	5	53,36	11,62	63,83	13,52	0,2738486
20	5	57,26	9,5	69,26	12,74	0,1693747
30	5	59,9	10,98	74,85	14,39	0,1372996
60	5	107,27	27,38	260,9	75,56	0,005069
120	5	496,67	268,12	1149,09	334,38	0,0159544

Tab6.3 Vergleich Bioline – Safeline

6.4 Vergleich der Safeline-Oxygenatoren mit den heparinisierten Safeline Oxygenatoren:

Der Vergleich dieser beiden Gruppen ergab keinen statistisch signifikanten Unterschied (Abb.12). Die PMN-Elastase-Konzentration stieg in der Safeline-Gruppe von $54,15 \pm 6,08 \mu\text{g/l}$ auf einen Maximalwert von $1149,09 \pm 334,38 \mu\text{g/l}$ (2207,459 % der Ausgangskonzentration), in der Safeline-Gruppe mit dem Heparinzusatz erreichte die Konzentration an PMN-Elastase bei einem Ausgangswert von $73,17 \pm 12,76 \mu\text{g/l}$ einen maximalen Wert von $1341,3 \pm 442,75 \mu\text{g/l}$ (1790,960 % der Ausgangskonzentration). Innerhalb der mit der Heparinlösung vorgespülten Safeline-Gruppe ergab sich nach 60 Minuten ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den verschiedenen Abnahmezeitpunkten.

6.5 Vergleich der Safeline-Oxygenatoren mit den schnell gealterten Safeline-Oxygenatoren:

Bei diesen Gruppen zeigte sich zwischen 10- und 30minütiger Rezirkulationszeit ein statistisch signifikanter Unterschied, der auf dem starken Anstieg der PMN-Elastase-Konzentration innerhalb der gealterten Safeline-Gruppe beruhte (Abb.12). In dieser Gruppe stieg die Konzentration von $51,06 \pm 4,21 \mu\text{g/l}$ nach 10minütiger Rezirkulation auf einen Wert von $182,98 \pm 89,67 \mu\text{g/l}$ bzw. 363,306 % des Ausgangswertes an, während in der Safeline-Gruppe die PMN-Elastase-Konzentration zu dieser Zeit 118,092 % des Ausgangswertes betrug. Nach einer halben Stunde stieg dieser Wert um ca. 20 %, wohingegen in der gealterten Gruppe ein Anstieg von etwas unter 100 % verzeichnet wurde.

Zwischen den einzelnen Abnahmezeiten innerhalb der schnell gealterten Safeline-Gruppe konnte schon nach einer Zirkulationszeit von 5 Minuten ein signifikanter Unterschied konstatiert werden.

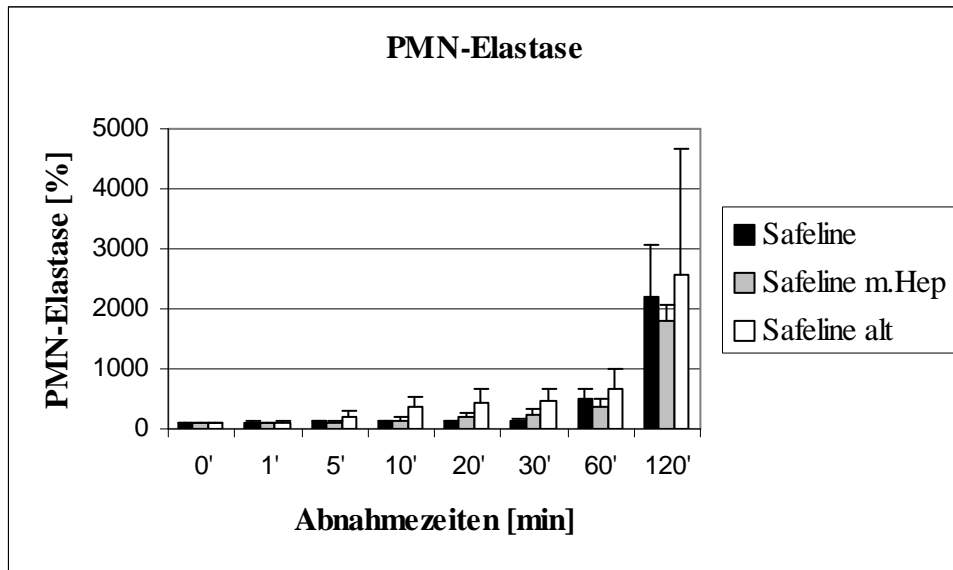


Abb.12 Verlauf der PMN-Elastase-Konzentrationen während 120minütiger Rezirkulation

Abnahmezeiten [min]	n	Safeline		Safeline m.Hep		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	54,15	6,08	73,17	12,76	0,0274464
1	5	58,14	5,22	65,98	7,22	0,1165543
5	5	63,41	11,95	81,42	22,59	0,1963126
10	5	63,83	13,52	113,37	62,82	0,1616307
20	5	69,26	12,74	148,02	92,37	0,1296203
30	5	74,85	14,39	175,43	105,49	0,0955235
60	5	260,9	75,56	280,56	154,78	0,8251318
120	5	1149,09	334,38	1341,3	442,75	0,5080128

Tab6.4 Vergleich Safeline – Safeline mit Heparin

Abnahmezeiten [min]	n	Safeline		Safeline alt		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	54,15	6,08	51,06	4,21	0,4278213
1	5	58,14	5,22	50,51	7,03	0,1199142
5	5	63,41	11,95	107,28	48,26	0,1156499
10	5	63,83	13,52	182,96	89,67	0,0305732
20	5	69,26	12,74	220,25	105,53	0,0217783
30	5	74,85	14,39	229,19	110,85	0,0246156
60	5	260,9	75,56	334,84	158,36	0,423828
120	5	1149,09	334,38	1287,49	1058,72	0,8094093

Tab6.5 Vergleich Safeline – Safeline schnell gealtert

7. SC5b-9 (TCC)

SC5b-9 ist ein Lysekomplex, der am Ende der Komplementkaskade gebildet wird und das Ausmaß der Komplementaktivierung widerspiegelt.

7.1 Vergleich der unbeschichteten Oxygenatoren mit den Bioline-Oxygenatoren:

Der Vergleich der unbeschichteten mit der heparinbeschichteten Gruppe ergab zunächst nach 5minütiger Rezirkulation einen statistisch signifikanten Unterschied (Abb.13). Zu diesem Zeitpunkt stieg die SC5b-9-Konzentration in der unbeschichteten Gruppe von $226,76 \pm 56,08$ ng/ml auf $539,58 \pm 204,32$ ng/ml, in der Bioline-Gruppe von $203,24 \pm 68,48$ ng/ml auf $266,25 \pm 69,74$ ng/ml an. Wiederholt konnte ein signifikanter Unterschied nach einer Zirkulationszeit von 60 min nachgewiesen werden, der sich zum Ende der Rezirkulation als hoch signifikant zeigte. Nach 120 Minuten erreichte die TCC-Konzentration in der Bioline-Gruppe im Gegensatz zu dem Maximalwert von $2209,53 \pm 915,71$ ng/ml bzw. 1066,819 % in der unbeschichteten Gruppe nur einen Wert von $4,27,82 \pm 110,92$ ng/ml bzw. 229,065 % des Ausgangswertes.

Während innerhalb der unbeschichteten Gruppe schon nach 5minütiger Rezirkulation ein statistisch signifikanter Unterschied bestand, konnte dieser innerhalb der Bioline-Gruppe erst nach einer Stunde festgestellt werden.

7.2 Vergleich der unbeschichteten Oxygenatoren mit den Safeline-Oxygenatoren:

Auch dieser Vergleich zeigte bereits nach einer Zirkulationszeit von 5 Minuten einen statistisch signifikanten Unterschied, da in der Safeline-Gruppe im Gegensatz zur unbeschichteten Gruppe ein geringerer Konzentrationsanstieg des TCC von $199,71 \pm 41,33$ ng/ml auf $227,7 \pm 107,79$ ng/ml festgestellt werden konnte (Abb.13).

Nach einstündiger Rezirkulation konnte ebenfalls bis zum Schluss ein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden. Der in der Safeline-Gruppe erreichte maximale

SC5b-9-Wert betrug $900,91 \pm 292,17$ ng/ml bzw. 478,43 % des Ausgangswertes (non-coated: 1066,819 %).

Innerhalb der Safeline-Gruppe zeigte sich nach einer halben Stunde ein signifikanter Unterschied, der nach 60 Minuten statistisch gesehen als hoch signifikant bezeichnet werden konnte.

7.3 Vergleich der Bioline-Oxygenatoren mit den Safeline-Oxygenatoren:

Zwischen der heparinbeschichteten und der polypeptidbeschichteten Gruppe konnte zum Abnahmezeitpunkt nach einer Stunde bis zuletzt ein signifikanter Unterschied anhand der Varianzanalyse nachgewiesen werden, da die TCC-Konzentration in der Safeline-Gruppe nach dieser Zeit der Rezirkulation im Gegensatz zu dem SC5b-9-Wert in der Bioline-Gruppe deutlich höher anstieg (Abb.13) und der Maximalwert mit $227,7 \pm 107,79$ ng/ml nach 120 Minuten ungefähr doppelt so groß war wie der höchste gemessene TCC-Wert in der Bioline-Gruppe ($427,82 \pm 110,92$ ng/ml).

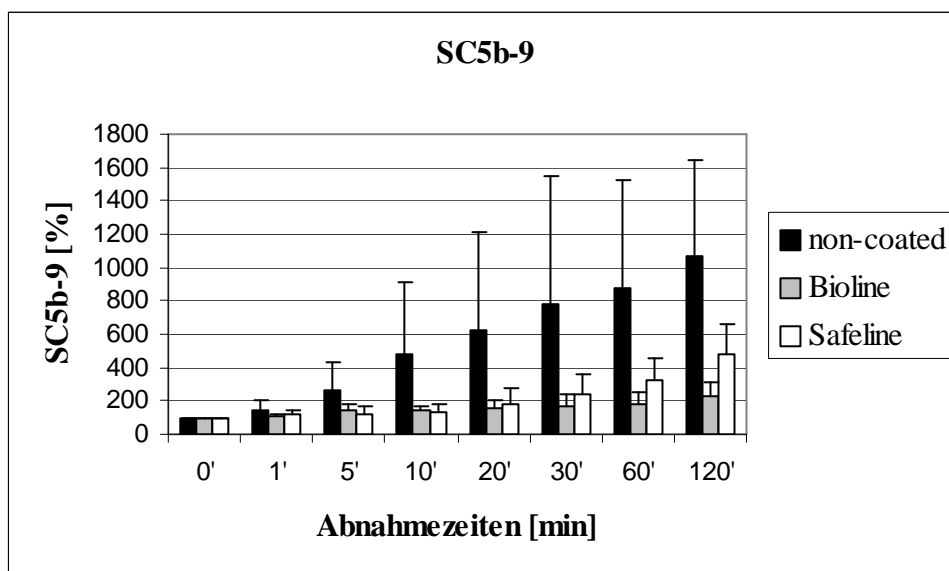


Abb.13 Verlauf der SC5b-9-Konzentrationen während 120minütiger Rezirkulation

Abnahmezeiten [min]	n	non-coated		Bioline		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	226,76	56,08	203,24	68,48	0,6096247
1	5	312,99	72,01	212,79	58,55	0,0628539
5	5	539,58	204,32	266,25	69,74	0,0351446
10	5	918,51	578,27	261,39	40,73	0,0531304
20	5	1173,31	827,75	274,11	34,69	0,0617474
30	5	1480,52	1053,76	295	63,08	0,0549027
60	5	1745,54	904,71	232,32	62,29	0,0142986
120	5	2209,53	915,71	427,82	110,92	0,0047721

Tab7.1 Vergleich non-coated – Bioline

Abnahmezeiten [min]	n	non-coated		Safeline		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	226,76	56,08	199,71	41,33	0,4597176
1	5	312,99	72,01	225,05	59,71	0,096879
5	5	539,58	204,32	227,7	107,79	0,0270909
10	5	918,51	578,27	252,73	112,02	0,0536661
20	5	1173,31	827,75	353,5	184,93	0,089284
30	5	1480,52	1053,76	457,39	218,98	0,0937853
60	5	1745,54	904,71	616,06	224,58	0,0416326
120	5	2209,53	915,71	900,91	292,17	0,0260716

Tab7.2 Vergleich non-coated – Safeline

Abnahmezeiten [min]	n	Bioline		Safeline		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	203,24	68,48	199,71	41,33	0,9317191
1	5	212,79	58,55	225,05	59,71	0,7767674
5	5	266,25	69,74	227,7	107,79	0,5653604
10	5	261,39	40,73	252,73	112,02	0,8879585
20	5	274,11	34,69	353,5	184,93	0,4232287
30	5	295	63,08	457,39	218,98	0,1919255
60	5	232,32	62,29	616,06	224,58	0,0408882
120	5	427,82	110,92	900,91	292,17	0,0163673

Tab7.3 Vergleich Bioline - Safeline

7.4 Vergleich der Safeline-Oxygenatoren mit den heparinisierten Safeline Oxygenatoren:

Die SC5b-9-Konzentration in der mit heparinisierte Lösung vorgespülten Safeline-Gruppe stieg weniger stark an als in der Safeline-Gruppe, der statistische Vergleich zeigte jedoch keinen signifikanten Unterschied (Abb.14).

Wie auch in der Safeline-Gruppe konnte innerhalb der mit der Heparinlösung vorgespülten Safeline-Oxygenatoren nach 30minütiger Rezirkulation ein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt werden, der sich bei der nächsten Abnahme eine halbe Stunde später als hoch signifikant zeigte.

7.5 Vergleich der Safeline-Oxygenatoren mit den schnell gealterten Safeline-Oxygenatoren:

Auch der statistische Vergleich der Safeline-Gruppe mit den schnell gealterten Safeline-Oxygenatoren zeigte keine signifikanten Unterschiede (Abb.14). Die SC5b-9-Konzentration stieg in der gealterten Safeline-Gruppe von $236,64 \pm 69,07$ ng/ml auf einen Wert von $1724,86 \pm 1097,41$ ng/ml bzw. auf 688,415 % des Ausgangswertes an. Innerhalb der Gruppe mit den gealterten Safeline-Oxygenatoren wurde schon nach einer Zirkulationszeit von 20 Minuten ein hoch signifikanter Unterschied nachgewiesen.

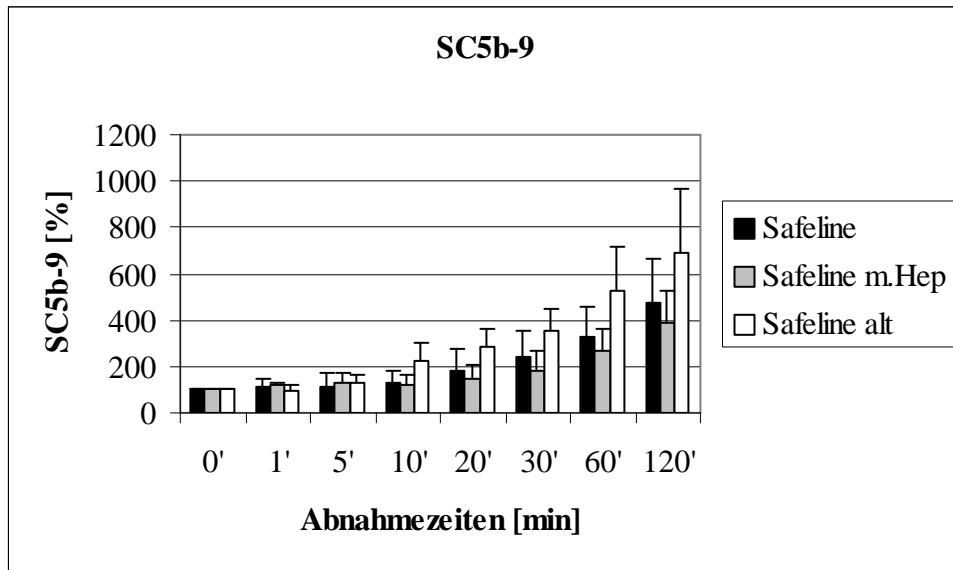


Abb.14 Verlauf der SC5b-9-Konzentrationen während 120minütiger Rezirkulation

Abnahmezeiten [min]	n	Safeline		Safeline m.Hep		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	199,71	41,33	200,93	64,44	0,9752332
1	5	225,05	59,71	230,37	50,91	0,8954942
5	5	227,7	107,79	234	68,09	0,9244771
10	5	252,73	112,02	226,18	50,03	0,6766248
20	5	353,5	184,93	272,2	56,13	0,3025299
30	5	457,39	218,98	331,08	67,83	0,3025299
60	5	616,06	224,58	475,7	58,81	0,2611118
120	5	900,91	292,17	694,52	94,03	0,2155409

Tab7.4 Vergleich Safeline - Safeline mit Heparin

Abnahmezeiten [min]	n	Safeline		Safeline alt		p
		Mittelwert	sd	Mittelwert	sd	
0	5	199,71	41,33	236,64	69,07	0,3856394
1	5	225,05	59,71	236,54	88,49	0,834971
5	5	227,7	107,79	322,38	130,48	0,2959384
10	5	252,73	112,02	526,86	238,82	0,0712834
20	5	353,5	184,93	666,02	226,71	0,0651417
30	5	457,39	218,98	808,33	258,82	0,0721976
60	5	616,06	224,58	1302,89	786,52	0,1315952
120	5	900,91	292,17	1724,86	1097,41	0,1848107

Tab7.5 Vergleich Safeline – Safeline schnell gealtert

IV. DISKUSSION

1. Thrombozyten

Die Reduzierung der Thrombozytenzahl, die Aktivierung der Thrombozyten sowie die verminderte Funktionsfähigkeit der Blutplättchen sind bekannte Folgen des kardiopulmonalen Bypasses und kommen vor allem durch den Kontakt des Blutes mit der Fremdoberfläche zustande. {121} Aber auch physikalische Faktoren wie die Hypothermie oder auf die Thrombozyten einwirkenden Scherkräfte, die Gabe von Heparin zur Antikoagulation, die Aktivierung des Komplementsystems und die Bildung von Thrombin beeinflussen die Eigenschaften und Funktion der Blutplättchen.

Die während der extrakorporalen Zirkulation aktivierten Thrombozyten formen sowohl untereinander als auch mit Leukozyten und Erythrozyten Aggregate, adhäreren an der synthetischen Oberfläche des Kreislaufsystems und setzen ihre Granulainhalte frei, die zum Teil eine weitere Aktivierung der Thrombozyten verursachen.

Diese Veränderungen können zu verschiedenen Komplikationen während und nach dem kardiopulmonalen Bypass führen, wobei vor allem die durch die Thrombozytenaggregate hervorgerufene Thromboembolie von großer Bedeutung ist. Zudem kann es zu einer postoperativ verlängerten Blutungszeit, beruhend auf dem Verlust der Thrombozytenaggregabilität sowie zu Entzündungsreaktionen aufgrund der durch die Blutplättchen geförderten Migration der Leukozyten in das Gewebe kommen.

{111}

Als Voraussetzung für die Adhäsion der Blutplättchen an der Fremdoberfläche wird die Adsorption der Plasmaproteine vWF und Fibrinogen an derselben angesehen, an die die Thrombozyten über den GP-Ib- bzw. GP-IIb/IIIa-Rezeptor binden. Diese Rezeptoren werden vermehrt auf der Oberfläche der aktivierten Plättchen exprimiert. Da die Adsorption der Plasmaproteine abhängig von Oberflächeneigenschaften wie Rauheit oder chemischer Zusammensetzung variiert, dient die Bestimmung der Thrombozytenkonzentrationen demzufolge der Beurteilung der Thrombogenität und damit der Biokompatibilität der Oberflächen im extrakorporalen Kreislauf.

{48}{68}{118}

Es muss jedoch beachtet werden, dass die gemessenen Thrombozytenzahlen nicht nur durch intakte Thrombozyten, sondern auch durch teilweise degranulierte oder beschädigte Zellen zustande kommen und somit keine einheitliche Zellpopulation widerspiegeln. {121}

In der Gruppe der unbeschichteten Oxygenatoren konnte schon nach einmütiger Rezirkulation bis zu einer Zirkulationszeit von 120 Minuten ein im Vergleich zu den heparinbeschichteten Oxygenatoren hoch signifikant stärkerer Konzentrationsabfall der Thrombozyten festgestellt werden (Minimalwert Bioline: $148 \pm 29 \times 10^3/\mu\text{l}$; Minimalwert non-coated: $11 \pm 12 \times 10^3/\mu\text{l}$).

Im Vergleich mit der Safeline-Gruppe fiel die Thrombozytenkonzentration in der unbeschichteten Gruppe nur initial (2. + 3. Abnahmezeitpunkt) hoch signifikant stärker ab, nach 10 Minuten Rezirkulation kam es jedoch auch in der Gruppe der polypeptidbeschichteten Oxygenatoren zu einem deutlichen Abfall der Plättchenzahlen (Minimalwert Safeline: $23 \pm 8 \times 10^3/\mu\text{l}$).

Zwischen den beiden beschichteten Oxygenatoren konnte in der Bioline-Gruppe von 5-60 Minuten eine deutlich geringere Reduktion ($p < 0,01$) der Thrombozytenanzahl nachgewiesen werden als in der Safeline-Gruppe.

Da die Thrombozytenkonzentration sowohl bei den unbeschichteten als auch bei den polypeptidbeschichteten Oxygenatoren nach ungefähr der Hälfte der Zirkulationszeit wieder zunahm, beruht der massive initiale Thrombozytensturz hauptsächlich auf der sofortigen Adhäsion der Plättchen an der 3 m² großen Fremdoberfläche des Kreislaufsystems und ist nur in geringem Maße bedingt durch eine Zerstörung der Zellen.

Aufgrund der Ergebnisse kann davon ausgegangen werden, dass die Faseroberfläche der unbeschichteten Oxygenatoren gefolgt von der polypeptidbeschichteten Oberfläche der Safeline-Oxygenatoren stark thrombogene Eigenschaften besitzen, die zu einer ausgeprägten Adhäsion der Blutplättchen führen und so den massiven Konzentrationsabfall bewirken. Die heparinbeschichtete Oberfläche der Bioline-Oxygenatoren hingegen weist in Bezug auf die Thrombozyten deutlich günstigere Eigenschaften im Sinne einer geringeren Plättchenadhäsion auf und reduziert demnach das Risiko thrombembolischer Komplikationen.

Zu Beginn der Rezirkulation bildet sich auf der Fremdoberfläche eine Plasmaproteinschicht, deren Muster abhängig von physikalischen und chemischen Materialeigenschaften variiert. {19} Die geringere Adhäsion der Thrombozyten an der Bioline-Beschichtung beruht somit womöglich auf der durch das immobilisierte Heparin veränderten Zusammensetzung der auf dieser Oberfläche absorbierten Plasmaproteinschicht. {118}

Da es in der Gruppe der mit heparinierter Lösung vorgespülten Oxygenatoren zu einem im Vergleich zu den Safeline-Oxygenatoren signifikant stärkeren Konzentrationsabfall der Thrombozyten kam (Minimalwert Safeline m. Hep.: $6 \pm 8 \times 10^3/\mu\text{l}$), kann man davon ausgehen, dass durch den Heparinzusatz in der Vorspüllösung keine Verminderung der Oberflächenthrombogenität herbeigeführt werden kann. Auch die Oberfläche der gealterten Oxygenatoren zeigte deutlich thrombogenere Eigenschaften ($p < 0,01$) als die nicht gealterten Safeline-Oxygenatoren, was auf eine nachlassende Wirkung der Oberflächenvergütung schließen lässt und somit eine begrenzte Haltbarkeit der Safelinebeschichtung demonstriert.

2. β -Thromboglobulin

Während des kardiopulmonalen Bypasses kommt es sowohl durch biomaterialabhängige als auch durch biomaterialunabhängige Faktoren zu einer Aktivierung von Thrombozyten. Zu diesen Faktoren zählen der Kontakt des Blutes mit der Fremdoberfläche im Kreislaufsystem, die Blut-Luft-Grenzfläche während der Oxygenierung, die Bildung von Thrombin und die Freisetzung von ADP sowie die während der Rezirkulation bestehende Hypothermie. {14}{50}{103}

Das β -Thromboglobulin ist ein plättchenspezifisches Protein in den α -Granula der Thrombozyten, das zusammen mit anderen Proteinen von aktivierten Zellen freigesetzt wird.

Erhöhte Plasmalevel dieses spezifischen Proteins während der extrakorporalen Zirkulation reflektieren demnach das Ausmaß der Plättchenaktivierung, können neben den oben genannten Stimuli jedoch auch durch eine Lyse der Thrombozyten aufgrund

einer mechanischen Traumatisierung der Zellen (Scherkräfte, Turbulenzen) verursacht werden. {14}{93}

Analog zu dem Thrombozytenabfall stieg die β -Thromboglobulinkonzentration bei den Bioline-Oxygenatoren (Maximalwert $1250,07 \pm 261,21$ IU/ml) im Vergleich zu den unbeschichteten (Maximalwert $5159,58 \pm 1127,87$ IU/ml) und den Safeline-Oxygenatoren (Maximalwert $5396,84 \pm 293,77$ IU/ml) hoch signifikant weniger stark an und spiegelt somit eine geringere Plättchenaktivierung durch die heparinbeschichtete Oberfläche wieder.

Zwischen den polypeptidbeschichteten und unbeschichteten Oxygenatoren konnte initial nach 5 Minuten Rezirkulation ein hoch signifikanter Unterschied nachgewiesen werden, da der β -Thromboglobulinwert in der unbeschichteten Gruppe zu diesem Zeitpunkt ($1462,84 \pm 671,11$ IU/ml) mehr als das Doppelte des gemessenen Wertes in der Safeline-Gruppe ($646,57 \pm 175,81$ IU/ml) betrug. Im weiteren Verlauf der Rezirkulation stieg die β -Thromboglobulinkonzentration bei den polypeptidbeschichteten Oxygenatoren jedoch ebenfalls massiv an und erreichte nach zwei Stunden Zirkulationszeit einen Maximalwert von $5917,119$ %, während die höchste gemessene β -Thromboglobulinkonzentration bei den unbeschichteten Oxygenatoren mit $4569,742$ % etwas geringer war.

Demzufolge korreliert die β -Thromboglobulinkonzentration in diesen Gruppen mit dem Thrombozytenabfall und zeigte eine vergleichbare Aktivierung der Blutplättchen durch die unbeschichtete und die polypeptidbeschichtete Oxygenatoroberfläche.

Im Vergleich zu den Safeline-Oxygenatoren wurde bei den gealterten Oxygenatoren ein signifikant stärkerer Anstieg der β -Thromboglobulinkonzentration nachgewiesen (Maximalwert $5081,05 \pm 504,31$ IU/ml), was zu der Annahme einer reduzierten Biokompatibilität der dem Alterungsprozess unterzogenen Safeline-Oxygenatoren führt.

3. TAT

Thrombin wird durch den Einfluss von Faktor Xa aus Prothrombin freigesetzt und stellt ein zentrales Enzym des Gerinnungssystems dar, da es nicht nur zu der Bildung von

Fibrin, sondern auch zu der Aktivierung des fibrinolytischen Systems sowie der Thrombozyten führt. {74}{109}

Der wichtigste physiologische Inhibitor des Thrombins ist das Antithrombin III, ein einkettiges Glykoprotein, das in Gefäßendothelzellen sowie in der Leber gebildet wird. Die Thrombininaktivierung erfolgt über die Formation eines stabilen Komplexes, dessen Bildung in Anwesenheit von Heparin enorm beschleunigt wird. {7}{79} Im Plasma zirkuliert Thrombin hauptsächlich komplexiert mit Antithrombin III und demzufolge in inaktiver Form. {109}

Die Bestimmung dieses TAT-Komplexes reflektiert das Ausmaß der intravasalen Thrombinbildung und gibt dadurch Aufschluss über das Vorliegen einer Gerinnungsaktivierung. {79} Eine erhöhte TAT-Konzentration deutet dabei auf eine bestehende Gerinnungsstörung im Sinne einer Hyperkoagulabilität hin. {109}

Ein Grund für die Bildung von Thrombin während der extrakorporalen Zirkulation ist die Aktivierung des Kontaktphasensystems durch das Exponiertsein des Blutes gegenüber der Fremdoberfläche. Es kann jedoch auch durch Einwirkung des Gewebefaktors (TF), der unter anderem durch Mediatoren der Immunantwort (Zytokine, Komplementfaktoren, Radikale) stimuliert wird, zu einer Einleitung eines Gerinnungsprozesses und damit zur Thrombinbildung während des kardiopulmonalen Bypasses kommen. {48}{87}{112}

Bei der Bestimmung der TAT-Konzentration ergab sich zum 2. und 3. Abnahmezeitpunkt sowie nach 120minütiger Rezirkulation in der Safeline-Gruppe (Maximalwert $6,514 \pm 1,174 \mu\text{g/l}$) ein im Vergleich zur Bioline-Gruppe (Maximalwert $11,934 \pm 4 \mu\text{g/l}$) signifikant geringerer Anstieg des TAT-Wertes.

Im Vergleich zu den unbeschichteten Oxygenatoren konnten sowohl bei den heparinbeschichteten als auch bei den polypeptidbeschichteten Oxygenatoren keine statistisch signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Es fiel jedoch in der Bioline-Gruppe eine deutlichere Zunahme der TAT-Konzentration auf.

Zum einen kann die vermehrte Komplexbildung bei den Bioline-Oxygenatoren auf einer durch die heparinbeschichtete Oberfläche ausgelösten verstärkten Gerinnungsaktivierung beruhen, zum anderen muss jedoch auch beachtet werden, dass die Thrombininaktivierung in Anwesenheit von Heparin enorm beschleunigt wird. Nach

Niimi et al. {68} besitzt jedoch nur ca. $\frac{1}{4}$ des an der Oberfläche der Oxygenatorfasern kovalent gebundenen Heparins eine hohe Affinität für Antithrombin III und somit eine die Komplexbildung beschleunigende Wirkung. Es ist demnach anzunehmen, dass die Beschichtung der Oxygenatoroberfläche mit Polypeptiden im Vergleich zu der Oberflächenvergütung mit Heparin eine geringere Aktivierung der Gerinnung und demzufolge eine geringere Thrombinbildung bewirkt, die eine weniger starke Gegenregulation im Sinne der Bildung von TAT-Komplexen erfordert.

Da bei den mit der heparinisierten Lösung vorgespülten Safeline-Oxygenatoren schon vor der Rezirkulation (1.Abnahmezeitpunkt) eine im Vergleich zu den Safeline-Oxygenatoren signifikant höhere TAT-Konzentration gemessen wurde, ist der nach einer Minute festgestellte, ebenfalls signifikant höhere TAT-Wert nicht weiter diskussionswürdig.

4. Hämolyse (Freies Hämoglobin)

Die Beschädigung von Erythrozyten im Verlauf der extrakorporalen Zirkulation führt zur Hämolyse und ist hauptsächlich auf Scherkräfte zurückzuführen, die während der Rezirkulation des Blutes durch das Kreislaufsystem auf die Zellmembranen einwirken. Diese Scherkräfte können vor allem durch die während des kardiopulmonalen Bypasses eingesetzten Blutpumpen, Kardiotomiesauger und Bubble-Oxygenatoren verursacht werden. {39} Aber auch Konnektorstellen und andere Regionen im Kreislaufsystem, die zu Turbulenzen des strömenden Blutes führen, üben einen schädigenden Einfluss auf die Erythrozyten und andere Blutzellen aus. {8}

Zudem kann der terminale Lysekomplex C5b-9, der während der extrakorporalen Zirkulation im Zuge der Komplementaktivierung gebildet wird, für eine Destruktion der Erythrozyten verantwortlich gemacht werden. {41}

Durch die Erythrozytenschädigung kommt es unter anderem zu einer Freisetzung thrombogener Substanzen wie z.B. ADP, welche die Thrombozytenaggregation fördern und somit das Risiko einer thrombogenen Embolisation erhöhen. {8}{39}

Freies Hämoglobin im Plasma kann zu oxidativem Gewebeschaden sowie zur Beeinträchtigung der Nierenfunktion führen. {80} Eine Hämoglobinurie tritt jedoch erst

ab einer Hämoglobinkonzentration im Serum von ca. 100 mg/dl auf, da das freie Hämoglobin zunächst an Haptoglobin gebunden und im RES eliminiert wird, bis dessen Bindungskapazität überschritten ist. {8}{53}

Die Messung der Konzentration von freiem Hämoglobin im Plasma lässt demnach auf das Ausmaß der Hämolyse und damit auf den Grad der Traumatisierung der Erythrozyten im extrakorporalen Kreislaufsystem schließen. {8}

Insgesamt kann festgestellt werden, dass eine nennenswerte Schädigung der Erythrozyten in diesen Versuchen erst nach einer Zirkulationszeit von zwei Stunden nachgewiesen werden konnte.

Nach dieser Zeit der Rezirkulation stieg die Hämoglobin-Konzentration in der Safeline-Gruppe ($238,63 \pm 106,92$ mg/dl) auf das 3,4-fache des zu dieser Zeit gemessenen Hämoglobinwertes in der Bioline-Gruppe ($31,644 \pm 14,824$ mg/dl) an. Der statistische Vergleich ergab zu diesem Abnahmezeitpunkt einen hoch signifikanten Unterschied ($p < 0,01$).

Nach derselben Zirkulationszeit wies auch der Vergleich der Safeline-Oxygenatoren mit den schnell gealterten Oxygenatoren ($71,32 \pm 56,98$ mg/dl) einen signifikant stärkeren Anstieg der Hämoglobin-Konzentration in der Safeline-Gruppe auf.

Aufgrund dieser Konzentrationsunterschiede kann man bei den Safeline-Oxygenatoren nach zweistündigem Einsatz von einer im Vergleich zu den oben genannten Oxygenatoren stärkeren Schädigung der Erythrozyten ausgehen, die aufgrund der gleichen Versuchsanordnung in allen Gruppen nicht auf verfahrensbedingte, sondern auf ungünstigere Eigenschaften der Safeline-Oberflächenbeschichtung zurückzuführen sind.

Der statistische Vergleich der unbeschichteten mit den heparinbeschichteten Oxygenatoren ergab keine signifikanten Unterschiede, die Hämoglobin-Konzentration stieg jedoch in der unbeschichteten Gruppe nach zweistündiger Rezirkulation stärker an als in der Bioline-Gruppe. Die Bioline-Oxygenatoren zeigten demnach auch noch am Ende des Versuches gute Oberflächeneigenschaften in Bezug auf die Traumatisierung der Blutzellen.

Da der am Ende der Zirkulation gemessene Hämoglobinwert in der Gruppe der gealterten Oxygenatoren (263,342 %) weniger als die Hälfte der zum selben Zeitpunkt in der Safeline-Gruppe festgestellten Hämoglobinkonzentration (602,226 %) betrug, kann angenommen werden, dass die Safeline-Oberflächenvergütung nach längerer Rezirkulation an positiven Eigenschaften und im Alterungsprozess an Wirkung verliert.

5. Leukozyten

Leukozyten, insbesondere die polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten stellen die Mehrheit der Zellen dar, die bei Entzündungsreaktionen im Rahmen von Sepsis, systemischen Entzündungsreaktionen und kardiopulmonalem Bypass beteiligt sind. {58}

In einem in-vitro-HLM-Modell kommt es durch die Hämodilution und die Adhäsion der Leukozyten an die im extrakorporalen Kreislaufsystem absorbierte Proteinschicht zu einem Abfall der Leukozytenkonzentration. {11}

Als wichtigster Rezeptor, über den die Neutrophilen und Monozyten an der Fremdoberfläche z.B. an Fibrinogen binden, ist der CR3-Rezeptor zu nennen. {2}{92}

Durch den kardiopulmonalen Bypass kommt es außerdem zu einer vermehrten Expression des Glykoproteins GMP-140 (CD62) auf der Oberfläche von aktivierten Thrombozyten, das die Bindung der Blutplättchen an die Leukozyten vermittelt. {90} Diese Thrombozyten-Leukozyten-Aggregate können bei der Zellzählung ebenso wenig wie die adhärenierten und aggregierten Leukozyten erfasst werden.

In vivo ist jedoch initial ein deutlich ausgeprägterer Leukozytensturz zu beobachten, der außer auf den oben genannten Ursachen auf einer Anreicherung der weißen Blutzellen in der Lungenstrombahn beruht. Dieses sogenannte „sticking“ der Leukozyten in den Lungenkapillaren wird zusammen mit der Freisetzung von Proteasen (vor allem der PMN-Elastase) aus ihren Granula als bedeutendster Faktor bei der Auslösung des akuten Lungenversagens (Adult Respiratory Distress Syndrom; ARDS) angesehen. {91}

Besonders die bei der Komplementaktivierung gebildeten Anaphylatoxine C3a und C5a sind aufgrund ihrer chemotaktischen und aktivierenden Eigenschaften für die

Migration der Leukozyten in das Gewebe und somit für die zirkulierende Neutropenie während des kardiopulmonalen Bypasses verantwortlich zu machen. {110} Zudem bewirken die beiden Fragmente eine Erhöhung der Kapillarpermeabilität, eine Kontraktilitätssteigerung der glatten Muskulatur sowie die Freisetzung von Histamin aus den Mastzellen. {34}

Im Vergleich zur unbeschichteten Gruppe zeigten die Bioline-Oxygenatoren während der gesamten Rezirkulation einen geringeren Abfall der Leukozytenkonzentration, der zum Abnahmezeitpunkt nach einer halben Stunde (non-coated: $2,4 \pm 0,8 \times 10^3/\mu\text{l}$; Bioline: $4,4 \pm 1,5 \times 10^3/\mu\text{l}$) statistisch signifikant war.

In ähnlicher Weise konnte dies bei dem Vergleich der unbeschichteten mit den Safeline-Oxygenatoren beobachtet werden, jedoch wurde hier schon nach 20 Minuten ein signifikant geringerer Leukozytenabfall in der polypeptidbeschichteten Gruppe nachgewiesen, der nach halb- und einstündiger Zirkulationszeit eine hohe Signifikanz aufwies (7.Abnahmezeitpunkt: non-coated: $2,2 \pm 0,4 \times 10^3/\mu\text{l}$; Safeline: $3,7 \pm 0,6 \times 10^3/\mu\text{l}$).

Somit lässt sich feststellen, dass sowohl die Heparinbeschichtung als auch die Safeline-Oberflächenvergütung bezüglich der Margination und Aggregation der Leukozyten der unbeschichteten Oxygenatoroberfläche überlegen sind und demzufolge eine bessere Biokompatibilität aufweisen.

Da im statistischen Vergleich der Bioline- mit den Safeline-Oxygenatoren keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen wurden, ist ein vergleichbarer Einfluss der verschiedenen Oberflächenbeschichtungen auf die weißen Blutzellen anzunehmen. Anhand der gemessenen Leukozytenkonzentrationen bei den heparinbeschichteten Oxygenatoren (Minimalwert $3,3 \pm 1,2 \times 10^3/\mu\text{l}$) kann man in dieser Gruppe jedoch eine weniger ausgeprägte Leukopenie beobachten als in der Safeline-Gruppe (Minimalwert $2 \pm 0,2 \times 10^3/\mu\text{l}$).

Die Modifizierung der Safeline-Oberflächenbeschichtung durch die heparinisierte Vorspüllösung führte zu einem signifikant stärkeren Abfall der Leukozyten im Vergleich zu den gemessenen Werten in der Safeline-Gruppe ($p < 0,05$: 4.+7.Abnahmezeitpunkt; $p < 0,01$: 5.+6.Abnahmezeitpunkt). Durch die Kontaktierung des Kreislaufsystems mit der heparinisierten Lösung vor Versuchsbeginn wurde

demnach keine Verbesserung der Biokompatibilität in Bezug auf die Leukozyten erreicht, sondern wurden vielmehr ungünstigere Bedingungen geschaffen.

Der hoch signifikant stärkere Leukozytenabfall in der Gruppe der schnell gealterten Safeline-Oxygenatoren lässt auf eine Verschlechterung der Oberflächeneigenschaften nach längerer Lagerung der Oxygenatoren schließen.

Sowohl im Vergleich mit den Bioline- und unbeschichteten Oxygenatoren als auch mit den modifizierten Safeline-Oxygenatoren zeigte der Safeline-Oxygenator bei längerem Einsatz (>1h) bezüglich der Auswirkung auf die Leukozyten deutlich ungünstigere Oberflächeneigenschaften als während der Rezirkulation innerhalb der ersten Stunde.

6. PMN-Elastase

Das Enzym PMN-Elastase ist in hohen Konzentrationen in den azurophilen Granula polymorphkerniger neutrophiler Granulozyten enthalten und zeichnet sich durch seine geringe Substratspezifität aus. {11}

Die PMN-Elastase wird von aktivierten Neutrophilen freigesetzt und bewirkt zusammen mit anderen Proteinasen und freien Radikalen den Abbau struktureller Komponenten des Interstitiums wie Kollagen, Elastin, Basalmembranen oder Proteoglykanen. {36}

Außerdem kann die PMN-Elastase unter anderem für die Veränderung von Gerinnungsproteinasen und die Inaktivierung ihrer Antagonisten, die Hydrolyse des Thrombozyten-Glykoproteins Ib sowie die Exposition von Fibrinogen-Rezeptoren auf der Plättchenoberfläche verantwortlich gemacht werden. Diese Effekte können zu hämorrhagischen Komplikationen während und nach dem kardiopulmonalen Bypass führen. {107}{11} Des Weiteren besitzt die Granulozytenelastase die Fähigkeit, die Komplementfragmente C3a und C5a abzuspalten und bewirkt somit indirekt eine Verstärkung der Leukozytenaktivierung. {34}

Die Aktivierung der weißen Blutzellen während der extrakorporalen Zirkulation erfolgt vor allem durch das bei der Initiation des Kontaktphasensystems entstehende Kallikrein, den PAF und das Anaphylatoxin C5a, aber auch durch den direkten Kontakt der Zellen mit der Fremdoberfläche. {39} Nach Jansen et al. {41} kann 55% des PMN-Elastase-Anstiegs im Plasma durch eine Erhöhung der TCC-Konzentration während der

Rezirkulation erklärt werden, da es durch Bindung des Lysekomplexes an die Leukozyten zu einer Destruktion derselben und folglich zu einer Freisetzung des Zellinhaltes kommt.

Den wichtigsten Inhibitor der Elastase stellt der α_1 -Proteinase-Inhibitor dar, der das Enzym durch Komplexbildung inaktiviert.

Anhand der Bestimmung dieses Enzym-Inhibitor-Komplexes, in dessen Form die PMN-Elastase hauptsächlich im Plasma zirkuliert, kann auf das Ausmaß der Leukozytenaktivierung geschlossen werden. {36}

In der Gruppe der unbeschichteten Oxygenatoren zeigte sich im Vergleich zu den heparinbeschichteten Oxygenatoren bis zu einer Zirkulationszeit von einer Stunde ein signifikant stärkerer Anstieg der PMN-Elastase-Konzentration (7.Abnahmezeitpunkt: non-coated: $423,51 \pm 256,34 \mu\text{g/l}$; Bioline: $107,27 \pm 27,38 \mu\text{g/l}$); im Vergleich zu den polypeptidbeschichteten Oxygenatoren stieg der PMN-Elastase-Wert nur zwischen 10 und 30 Minuten signifikant stärker an.

Nach ein- und zweistündiger Rezirkulation ergaben sich signifikante bzw. hoch signifikante Unterschiede zwischen den gemessenen PMN-Elastase-Konzentrationen in der Bioline- und Safeline-Gruppe, da zu diesen Abnahmezeitpunkten bei den Safeline-Oxygenatoren (7.Abnahmezeitpunkt: $260,9 \pm 75,56 \mu\text{g/l}$) deutlich höhere Elastase-Werte nachgewiesen werden konnten.

Aufgrund dieser Ergebnisse kann demnach auch in Bezug auf die Leukozytenaktivierung von einer günstigeren Hämokompatibilität der heparinbeschichteten Oxygenatoren ausgegangen werden.

Bis zu einer Rezirkulationszeit von einer Stunde hatte die Polypeptidbeschichtung im Vergleich zu den Oxygenatoren ohne Oberflächenvergütung eine deutlich geringere Aktivierung der Leukozyten zur Folge und wies somit bessere Oberflächeneigenschaften auf. Jedoch stieg die PMN-Elastase-Konzentration nach 120 Minuten massiv an ($1149,09 \pm 334,38 \mu\text{g/l}$) und übertraf dabei den maximalen Elastase-Wert in der unbeschichteten Gruppe ($798,58 \pm 383,2 \mu\text{g/l}$).

Demnach ist die Safeline-Beschichtung nach einer Zirkulationszeit von mehr als einer Stunde sowohl der heparinbeschichteten als auch der unbeschichteten Oberfläche unterlegen.

In der Gruppe der gealterten Oxygenatoren konnte ebenfalls zwischen 10- und 30minütiger Rezirkulation ein signifikant stärkerer Anstieg der PMN-Elastase-Konzentration als in der Safeline-Gruppe nachgewiesen werden. Die gealterten Safeline-Oxygenatoren übten demzufolge einen mit den unbeschichteten Oxygenatoren vergleichbaren Einfluss auf die Leukozyten aus, was auf eine durch den Alterungsprozess nachlassende Wirkung der Polypeptidbeschichtung schließen lässt. Nach ein bis zwei Stunden kam es jedoch in der Safeline-Gruppe zu einer Leukozytenaktivierung ähnlichen Ausmaßes. Dieses Ergebnis stellt einen weiteren Beweis für die im Laufe der Rezirkulation nachlassende Biokompatibilität der Safeline-Oxygenatoren dar.

7. SC5b-9

Die Aktivierung des Komplementsystems während des kardiopulmonalen Bypasses erfolgt hauptsächlich über den alternativen Weg und beruht auf dem Kontakt des Blutes mit der Fremdoberfläche, der Blut-Luft-Grenzfläche während der Oxygenierung sowie auf der Freisetzung von Endotoxinen während der extrakorporalen Zirkulation. Zu einer Komplementaktivierung über den klassischen Weg kommt es vor allem postoperativ durch die Gabe von Protamin zur Neutralisierung des präoperativ systemisch verabreichten Heparins. {11}{21}{29}

Das im Verlauf der extrakorporalen Zirkulation aktivierte Komplementsystem kann postoperativ zu Komplikationen wie myokardialer Dysfunktion, erhöhter Wasseransammlung in der Lunge, Multiorganversagen oder zur Hämolyse führen. {56}{98}{104}

Die Aktivierung der Komplementkaskade endet in der Formation des terminalen Lysekomplexes (TCC, C5b-9), der durch Bindung an die Zellmembran und Bildung eines transmembranalen Tunnels letztendlich zur Destruktion der Zielzelle führt. Demzufolge kommt es während dem kardiopulmonalen Bypass durch eine vermehrte Bildung des C5b-9-Komplexes zu einer Zerstörung von Erythrozyten und somit zur Hämolyse sowie zur Degranulation von Thrombozyten, neutrophilen Granulozyten und Monozyten. {15}

Außerdem resultiert aus der Komplexbildung eine erhöhte Expression des Leukozyten-Adhäsions-Proteins P-Selectin auf der Oberfläche der Gefäßendothelzellen und somit eine vermehrte Migration der weißen Blutzellen in das Gewebe. {56}

Der im Plasma frei zirkulierende C5b-9-Komplex wird durch Bindung an das ebenfalls frei im Plasma zirkulierende S-Protein inaktiviert. Die Konzentration dieses SC5b-9-Komplexes gibt Aufschluss über das Ausmaß der Komplementaktivierung und wird durch die Blut-Oberflächen-Interaktion während des kardiopulmonalen Bypasses erhöht. Infolgedessen kann über die Messung des SC5b-9-Wertes während der extrakorporalen Zirkulation eine Beurteilung der Biokompatibilität der im Kreislaufsystem verwendeten Materialien erfolgen. {15}

Im Vergleich zur Bioline-Gruppe wurde in der Gruppe der unbeschichteten Oxygenatoren nach 5 und 60 Minuten Rezirkulation eine signifikant höhere und nach 120 Minuten Rezirkulation (non-coated: $2209,53 \pm 915,71$ ng/ml; Bioline: $427,82 \pm 110,92$ ng/ml) eine hoch signifikant höhere SC5b-9-Konzentration festgestellt. Zu denselben Abnahmezeitpunkten ergab auch der statistische Vergleich der unbeschichteten Oxygenatoren mit den Safeline-Oxygenatoren (Maximalwert nach 120 Minuten: $900,91 \pm 292,17$ ng/ml) signifikant höhere Werte in der unbeschichteten Gruppe.

Nach einer Zirkulationszeit von einer Stunde stieg die TCC-Konzentration bei den Safeline-Oxygenatoren ($616,06 \pm 224,58$ ng/ml) im Vergleich zu den heparinbeschichteten Oxygenatoren ($232,32 \pm 62,29$ ng/ml) deutlich stärker an ($p < 0,05$).

Den Ergebnissen zufolge führt die Oberflächenbeschaffenheit der unbeschichteten Oxygenatoren zu einer im Vergleich zu den beschichteten Oxygenatoren stärkeren Komplementaktivierung und lässt somit auf eine ungünstigere Biokompatibilität dieser Oxygenatoren schließen.

Da nach einstündiger Rezirkulation bei den Safeline-Oxygenatoren eindeutig höhere SC5b-9-Konzentrationen als bei den Bioline-Oxygenatoren nachgewiesen wurden, sind die Vorteile der Heparinbeschichtung auch in Bezug auf diesen Parameter unverkennbar.

Möglicherweise beruht die geringere Komplementaktivierung in der Bioline-Gruppe auf der Bindung des SC5b-9-Komplexes an das immobilisierte Heparin der Oxygenatoroberfläche. {104}

Obwohl zwischen den verschiedenen Safeline-Oxygenatoren keine statistisch signifikanten Unterschiede festgestellt wurden, konnten während der gesamten Rezirkulation in der Gruppe der gealterten Safeline-Oxygenatoren die höchsten SC5b-9-Werte gemessen werden (Maximalwert $1724,86 \pm 1097,41$ ng/ml). Aufgrund dieser Tatsache kann man auch in Bezug auf diesen Parameter davon ausgehen, dass es im Zuge der Alterung der Oxygenatoren zu einer verminderten Wirksamkeit der Polypeptidbeschichtung und somit zu einer verstärkten Aktivierung des Komplementsystems kommt.

Der Vergleich der bioaktiven mit der biopassiven Oberflächenbeschichtung zeigt deutliche Vorteile der heparinbeschichteten Oxygenatoren bezüglich der Biokompatibilität. Vor allem aufgrund der Thrombozytenzahl und des Ausmaßes der Plättchenaktivierung kann die Oberfläche der Bioline-Oxygenatoren als hämokompatibler und weniger thrombogen bezeichnet werden.

Der insgesamt ungünstigere Einfluss der Safeline-Beschichtung sowohl auf das Gerinnungs- als auch auf das inflammatorische System, der nach zweistündiger Rezirkulation besonders hervortritt, führt zu dem Schluss, dass die Vergütung von Oxygenatoroberflächen mit Polypeptiden keine nennenswerte Optimierung der Materialeigenschaften und somit Verbesserung der Biokompatibilität mit sich bringt.

Die durch den Alterungsprozess reduzierte Wirkung der Safeline-Oberflächenvergütung demonstriert eine begrenzte Haltbarkeit dieser Materialoberfläche und stellt einen weiteren Nachteil dieser biopassiven Beschichtung dar.

Abschließend ist festzuhalten, dass die Verwendung von Bioline-Oxygenatoren im Rahmen des kardiopulmonalen Bypasses im Vergleich zu den Safeline- und unbeschichteten Oxygenatoren zu einer Minimierung der durch den Einsatz der Herz-Lungen-Maschine bestehenden Risiken wie postoperativ erhöhte Blutungsneigung, thrombembolische Ereignisse oder dem Post-Perfusions-Syndrom bis hin zum Multiorganversagen führt.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Der Kontakt des Blutes mit den unphysiologischen Oberflächen von extrakorporalen Kreislaufsystemen, die unter anderem im Rahmen von herzchirurgischen Operationen Verwendung finden, bewirkt eine Aktivierung von sowohl humoralen als auch zellulären Komponenten des Blutes. Die damit einhergehenden Hämostasestörungen, wie Nachblutungen, systemische Entzündungsreaktionen oder Thromboembolien führten zu dem Bestreben, eine dem Gefäßendothel nahezu perfekt gleichende Materialoberfläche zu entwickeln, die möglichst geringe pathophysiologische Interaktionen zwischen Blut und Oberfläche hervorruft.

Eine Methode, die Biokompatibilität der verwendeten Materialien zu optimieren, stellt die Vergütung der Oberflächen von Oxygenatoren, Konnektoren und Schlauchsystemen dar. Dabei kann zwischen bioaktiven und biopassiven Beschichtungen unterschieden werden, deren Einflüsse auf die Hämokompatibilität von Oxygenatoren in der vorliegenden Arbeit getestet wurden:

In einem kurzgeschlossenen HLM-Modell wurden 500 ml Blut und Blutzusätze gemäß Operationsbedingungen für zwei Stunden rezirkuliert und zu verschiedenen Abnahmezeitpunkten Blutproben entnommen. Zum Einsatz kamen Hohlfasermembranoxygenatoren, die zum einen eine heparinbeschichtete und zum anderen eine polypeptidbeschichtete Oberfläche aufwiesen. Als Kontrollgruppe dienten unbeschichtete Oxygenatoren derselben Bauart.

Zudem wurde eine Gruppe von polypeptidbeschichteten Oxygenatoren einem Schnellalterungsprozess unterzogen, um über den Vergleich mit den nicht gealterten Oxygenatoren eine Aussage bezüglich der Haltbarkeit und Alterungsbeständigkeit dieser biopassiven Oberflächenvergütung machen zu können.

Des Weiteren sollte durch das Priming eines Teils der polypeptidbeschichteten Oxygenatoren mit einer heparinhaltigen Lösung vor dem Beginn der Rezirkulation eine mögliche Verbesserung der Biokompatibilität der Oberfläche untersucht werden.

Zur Evaluation der Hämokompatibilität der unterschiedlich beschichteten und modifizierten Oxygenatoroberflächen wurden verschiedene Aktivierungsmarker der plasmatischen und thrombozytären Gerinnung sowie der Inflammation analysiert.

Die Auswertung der Ergebnisse zeigte eine deutliche Überlegenheit der Heparinbeschichtung gegenüber der Polypeptidoberflächenvergütung und den unbeschichteten Oxygenatoren in Bezug auf die meisten Untersuchungsparameter. Insbesondere der günstigere Einfluss der heparinbeschichteten Oxygenatoren auf die Thrombozyten im Sinne einer deutlich geringer ausgeprägten Thrombozytopenie sowie Plättchenaktivierung während der Rezirkulationphase demonstriert die Vorteile der bioaktiven gegenüber der biopassiven Oberflächenvergütung. Demnach kommt es durch den Kontakt des Blutes mit der polypeptidbeschichteten Oberfläche in höherem Ausmaß als bei den heparinbeschichteten Oxygenatoren zu einer Aktivierung der Thrombozyten, die daraufhin über nun vermehrt exprimierte Rezeptoren an die Fremdoberfläche adhären und so einen Abfall der Plättchenkonzentration bewirken. Das von den aktivierten Zellen freigesetzte plättchenspezifische Protein β -Thromboglobulin dient dabei als Aktivierungsmarker und konnte in der Gruppe der heparinbeschichteten Oxygenatoren in auffallend niedrigeren Konzentrationen gemessen werden.

Bei den polypeptidbeschichteten Oxygenatoren fiel außerdem, vor allem nach ein- bis zweistündiger Rezirkulation, eine massive inflammatorische Antwort auf, was besonders anhand der gemessenen PMN-Elastase-Konzentration deutlich wurde. Erhöhte PMN-Elastase-Werte werden zusammen mit der Sequestration von Leukozyten in den Lungenkapillaren mit der Entstehung eines akuten Lungenversagens (ARDS) nach extrakorporaler Zirkulation in Verbindung gebracht.

In Bezug auf die Alterungsbeständigkeit der polypeptidbeschichteten Oxygenatoren lässt sich aufgrund der gemessenen Parameterkonzentrationen eine begrenzte Lagerungsfähigkeit der Oxygenatoren feststellen, da die Polypeptidbeschichtung durch den Alterungsprozess offensichtlich an positiven Eigenschaften verliert.

Ebenso konnte anhand der Ergebnisse gezeigt werden, dass durch den Zusatz von Heparin in das Primingvolumen keine Verbesserung der Biokompatibilität, sondern sogar zum Teil schlechtere Oberflächeneigenschaften erzielt wurden.

Angesichts der in dieser Studie gefundenen Ergebnisse kann angenommen werden, dass sich der klinische Einsatz von heparinbeschichteten Oxygenatoren im extrakorporalen Zirkulationsverfahren gegenüber der Verwendung von polypeptidbeschichteten Oxygenatoren als vorteilhafter erweist. Jedoch zeigte auch die Polypeptidoberflächenvergütung günstigere Eigenschaften im Vergleich zu den unbeschichteten Oxygenatoren und könnte somit der Minimierung der mit dem kardiopulmonalen Bypass einhergehenden Komplikationen dienen.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

- {1} C. S. Abrams, N. Ellison, A. Z. Budzynski, and S. J. Shattil. Direct detection of activated platelets and platelet-derived microparticles in humans. *Blood* 75 (1):128-138, 1990.
- {2} D. C. Altieri, F. R. Agbanyo, J. Plescia, M. H. Ginsberg, T. S. Edgington, and E. F. Plow. A unique recognition site mediates the interaction of fibrinogen with the leukocyte integrin Mac-1 (CD11b/CD18). *J.Biol.Chem.* 265 (21):12119-12122, 1990.
- {3} R. Ascione, C. T. Lloyd, M. J. Underwood, A. A. Lotto, A. A. Pitsis, and G. D. Angelini. Inflammatory response after coronary revascularization with or without cardiopulmonary bypass. *Ann.Thorac.Surg.* 69 (4):1198-1204, 2000.
- {4} G. Asimakopoulos and K. M. Taylor. Effects of cardiopulmonary bypass on leukocyte and endothelial adhesion molecules. *Ann.Thorac.Surg.* 66 (6):2135-2144, 1998.
- {5} M. Barthels and H. Poliwoda. *Gerinnungsanalysen - Schnellorientierung, Befundinterpretation, klinische Konsequenzen*, Stuttgart, New York:Georg Thieme Verlag, 1998.
- {6} C. Bauer. Blut: Ein flüssiges Organsystem. In: *Lehrbuch der Physiologie*, edited by R. Klinke and S. Silbernagl, Stuttgart, New York:Georg Thieme Verlag, 1996, p. 185-212.
- {7} C. H. Beresford and M. C. Owen. Antithrombin III. *Int.J.Biochem.* 22 (2):121-128, 1990.
- {8} D. Birnbaum. Pathophysiologie der EKZ. In: *Handbuch der Kardiotechnik*, edited by G. Lauterbach, München, Jena:Urban & Fischer Verlag, 2002, p. 157-178.
- {9} D. Bitter-Suermann and U. Hadding. Komplementsystem. In: *Immunologie*, edited by D. Gemsa, J. R. Kalden, and K. Resch, Stuttgart, New York:Georg Thieme Verlag, 1991, p. 63-78.
- {10} H. D. Bruhn. Antithrombotische Therapie durch Heparin. *Med.Welt* 41:385-389, 1990.
- {11} J. Butler, G. M. Rucker, and S. Westaby. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Ann.Thorac.Surg.* 55 (2):552-559, 1993.
- {12} E. J. Campbell, M. A. Campbell, S. S. Boukedes, and C. A. Owen. Quantum proteolysis by neutrophils: implications for pulmonary emphysema in alpha 1-antitrypsin deficiency. *J.Clin.Invest* 104 (3):337-344, 1999.
- {13} A. de Agostini, H. R. Lijnen, R. A. Pixley, R. W. Colman, and M. Schapira. Inactivation of factor XII active fragment in normal plasma. Predominant role of C-1-inhibitor. *J.Clin.Invest* 73 (6):1542-1549, 1984.

- {14} J. O. Defraigne, J. Pincemail, G. Dekoster, R. Larbuisson, M. Dujardin, F. Blaffart, J. L. David, and R. Limet. SMA circuits reduce platelet consumption and platelet factor release during cardiac surgery. *Ann.Thorac.Surg.* 70 (6):2075-2081, 2000.
- {15} R. Deppisch, V. Schmitt, J. Bommer, G. M. Hansch, E. Ritz, and E. W. Rauterberg. Fluid phase generation of terminal complement complex as a novel index of bioincompatibility. *Kidney Int.* 37 (2):696-706, 1990.
- {16} B. Dewald, R. Rindler-Ludwig, U. Bretz, and M. Baggiolini. Subcellular localization and heterogeneity of neutral proteases in neutrophilic polymorphonuclear leukocytes. *J.Exp.Med.* 141 (4):709-723, 1975.
- {17} D. J. Doyle, C. N. Chesterman, J. F. Cade, J. R. McGready, G. C. Rennie, and F. J. Morgan. Plasma concentrations of platelet-specific proteins correlated with platelet survival. *Blood* 55 (1):82-84, 1980.
- {18} L. H. Edmunds, Jr., N. Ellison, R. W. Colman, S. Niewiarowski, A. K. Rao, V. P. Addonizio, Jr., L. W. Stephenson, and R. N. Edie. Platelet function during cardiac operation: comparison of membrane and bubble oxygenators. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* 83 (6):805-812, 1982.
- {19} L. H. Edmunds, Jr. Advances in the heart-lung machine after John and Mary Gibbon. *Ann.Thorac.Surg.* 76 (6):S2220-S2223, 2003.
- {20} J. C. Fitch, S. Rollins, L. Matis, B. Alford, S. Aranki, C. D. Collard, M. Dewar, J. Elefteriades, R. Hines, G. Kopf, P. Kraker, L. Li, R. O'Hara, C. Rinder, H. Rinder, R. Shaw, B. Smith, G. Stahl, and S. K. Shernan. Pharmacology and biological efficacy of a recombinant, humanized, single-chain antibody C5 complement inhibitor in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery with cardiopulmonary bypass. *Circulation* 100 (25):2499-2506, 1999.
- {21} E. Fosse, O. Moen, E. Johnson, G. Semb, V. Brockmeier, T. E. Mollnes, M. K. Fagerhol, and P. Venge. Reduced complement and granulocyte activation with heparin-coated cardiopulmonary bypass. *Ann.Thorac.Surg.* 58 (2):472-477, 1994.
- {22} G. Fuhrer, M. J. Gallimore, W. Heller, and H. E. Hoffmeister. FXII. *Blut* 61 (5):258-266, 1990.
- {23} P. Gaehtgens. Das Kreislaufsystem. In: *Lehrbuch der Physiologie*, edited by R. Klinke and S. Silbernagl, Stuttgart, New York:Georg Thieme Verlag, 1996, p. 141-184.
- {24} J. N. George, A. T. Nurden, and D. R. Phillips. Molecular defects in interactions of platelets with the vessel wall. *N.Engl.J.Med.* 311 (17):1084-1098, 1984.
- {25} B. Glasmacher and L. Sellin. Werkstoffkunde. In: *Extrakorporale Zirkulation in Theorie und Praxis*, edited by R. J. Tschaut, Lengerich, Berlin, Düsseldorf, Leipzig, Riga, Scottsdale (USA), Wien, Zagreb:Pabst Science Publishers, 1999, p. 251-263.

- {26} E. Glusa, G. Pidur, and E. Wenzel. Pharmakologie der Hämostase: Antithrombotische und blutstillende Therapie. In: *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, edited by W. Forth, D. Henschler, W. Rummel, U. Förstermann, and K. Starke, München, Jena:Urban&Fischer Verlag, 2001, p. 555-592.
- {27} G. P. Gravlee. Heparin-coated cardiopulmonary bypass circuits. *J.Cardiothorac.Vasc.Anesth.* 8 (2):213-222, 1994.
- {28} F. Grimminger, H. D. Walmrath, W. Seeger, and H.-G. Lasch. Granulozyten-Endothel-Interaktion - Mechanismen der Abwehr und Autoaggression. *Hämostaseologie* 14:7-15, 1994.
- {29} Y. J. Gu, M. A. Mariani, P. W. Boonstra, J. G. Grandjean, and W. van Oeveren. Complement activation in coronary artery bypass grafting patients without cardiopulmonary bypass: the role of tissue injury by surgical incision. *Chest* 116 (4):892-898, 1999.
- {30} D. E. Hammerschmidt, D. F. Stroncek, T. K. Bowers, C. J. Lammi-Keefe, D. M. Kurth, A. Ozalins, D. M. Nicoloff, R. C. Lillehei, P. R. Craddock, and H. S. Jacob. Complement activation and neutropenia occurring during cardiopulmonary bypass. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* 81 (3):370-377, 1981.
- {31} N. Heimbürger. Entzündungsreaktionen und Hämostase. *Hämostaseologie* 14:1-6, 1994.
- {32} D. Heinrich, T. Eckhardt, R. Höge, and G. Müller-Berghaus. Blutungskomplikationen während und nach dem Einsatz der Herz-Lungen-Maschine - Pathophysiologie, Diagnostik, Prävention und Therapie. *Hämostaseologie* 5:54-64, 1985.
- {33} D. Heinrich, R. Hanusch, and D. G. S. Thilo-Körner. Einfluß von unfraktioniertem Heparin auf die Plättchenfunktion und primäre Hämostase. *Hämostaseologie* 5:200-208, 1985.
- {34} W. Heller, G. Fuhrer, L. Frischauf, H. E. Hoffmeister, and Ch. Huth. Komplementaktivierung und Immunglobulinspiegel während und nach aortokoronaren Bypassoperationen. *Med.Welt* 36:753-757, 1985.
- {35} D. A. Higuchi, T. C. Wun, K. M. Likert, and G. J. Broze, Jr. The effect of leukocyte elastase on tissue factor pathway inhibitor. *Blood* 79 (7):1712-1719, 1992.
- {36} C. R. Hind, J. F. Griffin, S. Pack, Y. E. Latchman, H. F. Drake, H. M. Jones, J. Brostoff, T. L. Dormandy, and T. Treasures. Effect of cardiopulmonary bypass on circulating concentrations of leucocyte elastase and free radical activity. *Cardiovasc.Res.* 22 (1):37-41, 1988.
- {37} H. Holmsen. Platelet metabolism and activation. *Semin.Hematol.* 22 (3):219-240, 1985.

- {38} V. Hombach. *Kardiologie Band 3 - Kardiovaskuläre Chirurgie*, Stuttgart, New York:F.K. Schattauer Verlagsgesellschaft mbH, 1990.
- {39} L. C. Hsu. Biocompatibility in cardiopulmonary bypass. *J.Cardiothorac.Vasc.Anesth.* 11 (3):376-382, 1997.
- {40} C. A. Janeway, P. Travers, M. Walport, and M. J. Shlomchik. *Immunobiology - The immune system in health and disease*, New York:Garland Publishing, Taylor&Francis Group, 2001.
- {41} P. G. Jansen, Velthuis H. te, R. A. Huybregts, R. Paulus, E. R. Bulder, H. I. van der Spoel, P. D. Bezemer, E. H. Slaats, L. Eijnsman, and C. R. Wildevuur. Reduced complement activation and improved postoperative performance after cardiopulmonary bypass with heparin-coated circuits. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* 110 (3):829-834, 1995.
- {42} G. Janvier, C. Baquey, C. Roth, N. Benillan, S. Belisle, and J. F. Hardy. Extracorporeal circulation, hemocompatibility, and biomaterials. *Ann.Thorac.Surg.* 62 (6):1926-1934, 1996.
- {43} L. B. Jaques. Heparin - Ein neues Konzept seiner Natur und seiner Wirkung - Teil III. *Hämostaseologie* 5:121-126, 1985.
- {44} L. B. Jaques. Heparin - Ein neues Konzept seiner Natur und seiner Wirkung - Teil V. *Hämostaseologie* 5:193-199, 1985.
- {45} M. Jochum, H. Fritz, D. Nast-Kolb, and D. Inthorn. Granulozyten-Elastase als prognostischer Parameter. *Dt.Ärztebl.* 87 (19):B1106-B1110, 1990.
- {46} G. Kanzow. Blut. In: *Pathophysiologie/Pathobiochemie*, edited by F. Krück, München, Wien, Baltimore:Urban&Schwarzenberg, 1994, p. 611-642.
- {47} W. Kayser. Bildung, Aufbau, Funktion und Kinetik hämatopoetischer Zellen. In: *Transfusionsmedizin*, edited by C. Mueller-Eckhardt, Berlin, Heidelberg:Springer-Verlag, 1988, p. 21-46.
- {48} J. F. Keuren, S. J. Wielders, G. M. Willems, M. Morra, and T. Lindhout. Fibrinogen adsorption, platelet adhesion and thrombin generation at heparinized surfaces exposed to flowing blood. *Thromb.Haemost.* 87 (4):742-747, 2002.
- {49} T. Kreutzig. *Biochemie: Kurzlehrbuch zum Gegenstandskatalog 1*, Lübeck, Stuttgart, Jena, Ulm:Gustav Fischer Verlag, 1997.
- {50} Y. Kurihara, H. Nakayama, and S. Nakagawa. Plasma beta-thromboglobulin and platelet factor 4 in renal insufficiency. *Thromb.Res.* 18 (3-4):557-560, 1980.
- {51} F. Lang. *Pathophysiologie, Pathobiochemie*, Stuttgart:Ferdinand Enke Verlag, 1990.

- {52} K. T. Lappegard, M. Fung, G. Bergseth, J. Riesenfeld, J. D. Lambris, V. Videm, and T. E. Mollnes. Effect of complement inhibition and heparin coating on artificial surface-induced leukocyte and platelet activation. *Ann.Thorac.Surg.* 77 (3):932-941, 2004.
- {53} R. Larsen. *Anästhesie*, München, Jena:Urban & Fischer Verlag, 2002.
- {54} G. Lauterbach. Herz-Lungen-Maschine. In: *Handbuch der Kardioteknik*, edited by G. Lauterbach, München, Jena:Urban & Fischer, 2002, p. 181-184.
- {55} G. Lauterbach. Oxygenatoren. In: *Handbuch der Kardioteknik*, edited by G. Lauterbach, München, Jena:Urban & Fischer, 2002, p. 185-200.
- {56} H. L. Lazar, Y. Bao, J. Gaudiani, S. Rivers, and H. Marsh. Total complement inhibition: an effective strategy to limit ischemic injury during coronary revascularization on cardiopulmonary bypass. *Circulation* 100 (13):1438-1442, 1999.
- {57} K. Lechner. Hämorrhagische Diathesen. In: *Die Innere Medizin*, edited by W. Gerok, C. Huber, T. Meinertz, and H. Zeidler, Stuttgart, New York:Schattauer Verlagsgesellschaft mbH, 2000, p. 173-196.
- {58} J. H. Levy and K. A. Tanaka. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Ann.Thorac.Surg.* 75 (2):S715-S720, 2003.
- {59} E. F. Mammen. Blutung und Thrombose. *Med.Welt* 42:612-617, 1991.
- {60} J. G. Meyer. *Blutgerinnung und Fibrinolyse: Diagnostik, Therapie, Prophylaxe*, Köln:Deutscher Ärzteverlag GmbH, 1993.
- {61} A. D. Michelson, J. Loscalzo, B. Melnick, B. S. Coller, and R. I. Handin. Partial characterization of a binding site for von Willebrand factor on glyocalicin. *Blood* 67 (1):19-26, 1986.
- {62} D. S. Morse, D. Adams, and B. Magnani. Platelet and neutrophil activation during cardiac surgical procedures: impact of cardiopulmonary bypass. *Ann.Thorac.Surg.* 65 (3):691-695, 1998.
- {63} E. Mutschler. *Arzneimittelwirkungen: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*, Stuttgart:Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, 1996.
- {64} G. Müller-Berghaus. Physiologie der Blutgerinnung und Fibrinolyse. In: *Transfusionsmedizin*, edited by C. Mueller-Eckhardt, Berlin, Heidelberg:Springer-Verlag, 1988, p. 53-78.
- {65} A. P. Naef. *The story of thoracic surgery*, Toronto, Lewiston,NY, Bern, Göttingen, Stuttgart:Hogrefe & Huber Publishers, 1990.
- {66} J. Neppert. Immunologische Grundlagen. In: *Transfusionsmedizin*, edited by C. Mueller-Eckhardt, Berlin, Heidelberg:Springer-Verlag, 1988, p. 79-96.

- {67} S. Neumann and H. Lang. Entzündung. In: *Lehrbuch der klinischen Chemie und Pathobiochemie*, edited by H. Greiling and A. M. Gressner, Stuttgart, New York:F.K. Schattauer Verlagsgesellschaft mbH, 1995, p. 1257-1305.
- {68} Y. Niimi, F. Ichinose, Y. Ishiguro, K. Terui, S. Uezono, S. Morita, and S. Yamane. The effects of heparin coating of oxygenator fibers on platelet adhesion and protein adsorption. *Anesth.Analg.* 89 (3):573-579, 1999.
- {69} B. Nilsson, R. Larsson, J. Hong, G. Elgue, K. N. Ekdahl, A. Sahu, and J. D. Lambris. Compstatin inhibits complement and cellular activation in whole blood in two models of extracorporeal circulation. *Blood* 92 (5):1661-1667, 1998.
- {70} K. Ohlsson and I. Olsson. The neutral proteases of human granulocytes. Isolation and partial characterization of granulocyte elastases. *Eur.J.Biochem.* 42 (2):519-527, 1974.
- {71} K. Ohlsson and I. Olsson. Neutral proteases of human granulocytes. III. Interaction between human granulocyte elastase and plasma protease inhibitors. *Scand.J.Clin.Lab Invest* 34 (4):349-355, 1974.
- {72} C. Olsson, A. Siegbahn, A. Henze, B. Nilsson, P. Venge, P. O. Joachimsson, and S. Thelin. Heparin-coated cardiopulmonary bypass circuits reduce circulating complement factors and interleukin-6 in paediatric heart surgery. *Scand.Cardiovasc.J.* 34 (1):33-40, 2000.
- {73} H. Ostermann. Thrombosen und Embolien des arteriellen und venösen Systems. In: *Die Innere Medizin*, edited by W. Gerok, C. Huber, T. Meinertz, and H. Zeidler, Stuttgart, New York:Schattauer Verlagsgesellschaft mbH, 2000, p. 447-466.
- {74} E. Ovrum, F. Brosstad, H. E. Am, G. Tangen, and M. Abdelnoor. Effects on coagulation and fibrinolysis with reduced versus full systemic heparinization and heparin-coated cardiopulmonary bypass. *Circulation* 92 (9):2579-2584, 1995.
- {75} G. M. Palatianos, C. N. Foroulis, M. I. Vassili, G. Astras, K. Triantafillou, E. Papadakis, A. A. Lidoriki, E. Iliopoulou, and E. N. Melissari. A prospective, double-blind study on the efficacy of the bioline surface-heparinized extracorporeal perfusion circuit. *Ann.Thorac.Surg.* 76 (1):129-135, 2003.
- {76} D. Paparella, T. M. Yau, and E. Young. Cardiopulmonary bypass induced inflammation: pathophysiology and treatment. An update. *Eur.J.Cardiothorac.Surg.* 21 (2):232-244, 2002.
- {77} E. P. Paques and N. Heimbürger. Das fibrinolytische System. *Hämostaseologie* 6:139-147, 1986.
- {78} H. Patscheke and A. Ruf. Marker einer in-vivo-Thrombozytenaktivierung. In: *Labor und Diagnose*, edited by L. Thomas, Frankfurt/Main:TH-Books Verlagsgesellschaft mbH, 1998, p. 612-613.

- {79} H. Pelzer, A. Schwarz, and N. Heimbürger. Determination of human thrombin-antithrombin III complex in plasma with an enzyme-linked immunosorbent assay. *Thromb.Haemost.* 59 (1):101-106, 1988.
- {80} P. Philippidis, J. C. Mason, B. J. Evans, I. Nadra, K. M. Taylor, D. O. Haskard, and R. C. Landis. Hemoglobin scavenger receptor CD163 mediates interleukin-10 release and heme oxygenase-1 synthesis: antiinflammatory monocyte-macrophage responses in vitro, in resolving skin blisters in vivo, and after cardiopulmonary bypass surgery. *Circ.Res.* 94 (1):119-126, 2004.
- {81} D. R. Phillips, I. F. Charo, L. V. Parise, and L. A. Fitzgerald. The platelet membrane glycoprotein IIb-IIIa complex. *Blood* 71 (4):831-843, 1988.
- {82} S. Picardo and M. Goracci. Blut und seine Bestandteile. In: *Extrakorporale Zirkulation in Theorie und Praxis*, edited by R. J. Tschaut, Lengerich, Berlin, Düsseldorf, Leipzig, Scottsdale (USA), Wien, Zagreb:Pabst Science Publishers, 1999, p. 49-72.
- {83} R. A. Pixley, M. Schapira, and R. W. Colman. Effect of heparin on the inactivation rate of human activated factor XII by antithrombin III. *Blood* 66 (1):198-203, 1985.
- {84} E. F. Plow. Leukocyte elastase release during blood coagulation. A potential mechanism for activation of the alternative fibrinolytic pathway. *J.Clin.Invest* 69 (3):564-572, 1982.
- {85} K. T. Preissner and G. Müller-Berghaus. Molekulare Wechselwirkungen zwischen Komplement-, Gerinnungs- und Fibrinolyse-system. *Hämostaseologie* 6:67-81, 1986.
- {86} W. Prellwitz. Labordiagnostik und Normwertbereiche. In: *Die Innere Medizin*, edited by W. Gerok, C. Huber, T. Meinertz, and H. Zeidler, Stuttgart, New York:Schattauer Verlagsgesellschaft mbH, 2000, p. 1487-1514.
- {87} W. Pschyrembel and O. Dornblüth. *Pschyrembel - Klinisches Wörterbuch*, Berlin, New York:Walter de Gruyter, 2002.
- {88} H. Rasche. Niedermolekulare Heparine. *Dt.Ärztebl.* 85 (15):B738-B743, 1988.
- {89} W. Riegel, G. Spillner, V. Schlosser, and W. H. Horl. Plasma levels of main granulocyte components during cardiopulmonary bypass. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* 95 (6):1014-1019, 1988.
- {90} C. S. Rinder, J. L. Bonan, H. M. Rinder, J. Mathew, R. Hines, and B. R. Smith. Cardiopulmonary bypass induces leukocyte-platelet adhesion. *Blood* 79 (5):1201-1205, 1992.
- {91} K. Rommelsheim, H. Schlebusch, L. Orellano, F. Schwidetzky, and U. Klehr. [PMN elastase in extracorporeal circulation procedures]. *Anasth.Intensivther.Notfallmed.* 22 (1):3-7, 1987.

- {92} G. D. Ross and J. D. Lambris. Identification of a C3bi-specific membrane complement receptor that is expressed on lymphocytes, monocytes, neutrophils, and erythrocytes. *J.Exp.Med.* 155 (1):96-110, 1982.
- {93} S. Sagedal, A. Hartmann, K. Sundstrom, S. Bjornsen, and F. Brosstad. Anticoagulation intensity sufficient for haemodialysis does not prevent activation of coagulation and platelets. *Nephrol.Dial.Transplant.* 16 (5):987-993, 2001.
- {94} R. Seitz and R. Egbring. Behandlung von Gerinnungsstörungen bei Sepsis. *Med.Welt* 42:618-621, 1991.
- {95} S. J. Shattil, J. A. Hoxie, M. Cunningham, and L. F. Brass. Changes in the platelet membrane glycoprotein IIb/IIIa complex during platelet activation. *J.Biol.Chem.* 260 (20):11107-11114, 1985.
- {96} A. H. Stammers. Historical aspects of cardiopulmonary bypass: from antiquity to acceptance. *J.Cardiothorac.Vasc.Anesth.* 11 (3):266-274, 1997.
- {97} K. Tanaka, M. Takao, I. Yada, H. Yuasa, M. Kusagawa, and K. Deguchi. Alterations in coagulation and fibrinolysis associated with cardiopulmonary bypass during open heart surgery. *J.Cardiothorac.Anesth.* 3 (2):181-188, 1989.
- {98} H. teVelthuis, P. G. Jansen, C. E. Hack, L. Eijssman, and C. R. Wildevuur. Specific complement inhibition with heparin-coated extracorporeal circuits. *Ann.Thorac.Surg.* 61 (4):1153-1157, 1996.
- {99} L. Thomas. Leukozyten. In: *Labor und Diagnose*, edited by L. Thomas, Frankfurt/Main:TH-Books Verlagsgesellschaft mbH, 1998, p. 516-521.
- {100} L. Thomas. Komplement-System. In: *Labor und Diagnose*, edited by L. Thomas, Frankfurt/Main:TH-Books Verlagsgesellschaft, 1998, p. 812-823.
- {101} L. Thomas. Hämoglobine. In: *Labor und Diagnose*, edited by L. Thomas, Frankfurt/Main:TH-Books Verlagsgesellschaft, 1998, p. 487-491.
- {102} J. Travis and G. S. Salvesen. Human plasma proteinase inhibitors. *Annu.Rev.Biochem.* 52:655-709, 1983.
- {103} H. van Hulsteijn, R. Bertina, and E. Briet. A one-year follow-up study of plasma fibrinopeptide A and beta-thromboglobulin after deep vein thrombosis and pulmonary embolism. *Thromb.Res.* 27 (2):225-229, 1982.
- {104} V. Videm, T. E. Mollnes, P. Garred, and J. L. Svennevig. Biocompatibility of extracorporeal circulation. In vitro comparison of heparin-coated and uncoated oxygenator circuits. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* 101 (4):654-660, 1991.
- {105} S. Vogt, D. Troitzsch, S. Kasseckert, R. Moosdorf, and H. P. Wendel. Interaktionen des Blutes mit den künstlichen Oberflächen im extrakorporalen Kreislauf. In: *Extrakorporale Zirkulation in Theorie und Praxis*, edited by R. J.

Tschaut, Lengerich, Berlin, Düsseldorf, Leipzig, Riga, Scottsdale (USA), Wien, Zagreb:Pabst Science Publishers, 1999, p. 700-714.

- {106} Y. T. Wachtfogel, R. A. Pixley, U. Kucich, W. Abrams, G. Weinbaum, M. Schapira, and R. W. Colman. Purified plasma factor XIIa aggregates human neutrophils and causes degranulation. *Blood* 67 (6):1731-1737, 1986.
- {107} Y. T. Wachtfogel, U. Kucich, J. Greenplate, P. Gluszko, W. Abrams, G. Weinbaum, R. K. Wenger, B. Rucinski, S. Niewiarowski, L. H. Edmunds, Jr., and . Human neutrophil degranulation during extracorporeal circulation. *Blood* 69 (1):324-330, 1987.
- {108} C. Wagner. Antithrombin (AT). In: *Labor und Diagnose*, edited by L. Thomas, Frankfurt/Main:TH-Books Verlagsgesellschaft mbH, 1998, p. 630-632.
- {109} C. Wagner and F. Dati. Aktivierungsmarker: Thrombin-Antithrombin-Komplex (TAT), Prothrombinfragment 1+2 (F1+2). In: *Labor und Diagnose*, edited by L. Thomas, Frankfurt/Main:TH-Books Verlagsgesellschaft, 1998, p. 633-635.
- {110} S. Wan, J. L. LeClerc, and J. L. Vincent. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass: mechanisms involved and possible therapeutic strategies. *Chest* 112 (3):676-692, 1997.
- {111} A. Weerasinghe and K. M. Taylor. The platelet in cardiopulmonary bypass. *Ann.Thorac.Surg.* 66 (6):2145-2152, 1998.
- {112} P. W. Weerwind, T. Lindhout, N. E. Caberg, and D. S. De Jong. Thrombin generation during cardiopulmonary bypass: the possible role of retransfusion of blood aspirated from the surgical field. *Thromb.J.* 1 (1):3, 2003.
- {113} C. Weiss and W. Jelkmann. Funktionen des Blutes. In: *Physiologie des Menschen*, edited by R. F. Schmidt, G. Thews, and F. Lang, Berlin, Heidelberg, New York:Springer-Verlag, 2000, p. 411-447.
- {114} H.-H. Weitkemper, D. Troitzsch, and R. Körfer. Elemente und Funktionsprinzip einer Herz-Lungen-Maschine. In: *Extrakorporale Zirkulation in Theorie und Praxis*, edited by R. J. Tschaut, Lengerich, Berlin, Düsseldorf, Leipzig, Riga, Scottsdale (USA), Wien, Zagreb:Pabst Science Publishers, 1999, p. 271-287.
- {115} H.-H. Weitkemper, D. Troitzsch, and R. Körfer. Priming von extrakorporalen Kreislaufsystemen. In: *Extrakorporale Zirkulation in Theorie und Praxis*, edited by R. J. Tschaut, Lengerich, Berlin, Düsseldorf, Leipzig, Riga, Scottsdale (USA), Wien, Zagreb:Pabst Science Publishers, 1999, p. 342-347.
- {116} H. P. Wendel and G. Ziemer. Coating-techniques to improve the hemocompatibility of artificial devices used for extracorporeal circulation. *Eur.J.Cardiothorac.Surg.* 16 (3):342-350, 1999.
- {117} H. P. Wendel. Heparinbeschichtete Systeme. In: *Extrakorporale Zirkulation in Theorie und Praxis*, edited by R. J. Tschaut, Lengerich, Berlin, Düsseldorf,

Leipzig, Riga Scottsdale(USA), Wien, Zagreb:Pabst Science Publishers, 1999, p. 675-692.

- {118} H. P. Wendel, N. Weber, and G. Ziemer. [Comparative studies of the adsorption behavior of plasma proteins to heparin-coated surfaces]. *Biomed.Tech.(Berl)* 45 (10):282-287, 2000.
- {119} H. P. Wendel. Beschichtungstechniken für Werkstoffe der EKZ-Systeme. In: *Handbuch der Kardioteknik*, edited by G. Lauterbach, München, Jena:Urban & Fischer Verlag, 2002, p. 106-124.
- {120} H. P. Wendel. Hämostase. In: *Handbuch der Kardioteknik*, edited by G. Lauterbach, München, Jena:Urban & Fischer Verlag, 2002, p. 92-105.
- {121} R. K. Wenger, H. Lukasiewicz, B. S. Mikuta, S. Niewiarowski, and L. H. Edmunds, Jr. Loss of platelet fibrinogen receptors during clinical cardiopulmonary bypass. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* 97 (2):235-239, 1989.
- {122} S. Westaby. Organ dysfunction after cardiopulmonary bypass. A systemic inflammatory reaction initiated by the extracorporeal circuit. *Intensive Care Med.* 13 (2):89-95, 1987.
- {123} G. Wimmer-Greinecker, G. Matheis, S. Martens, G. Oremek, U. Abdel-Rahman, and A. Moritz. Synthetic protein treated versus heparin coated cardiopulmonary bypass surfaces: similar clinical results and minor biochemical differences. *Eur.J.Cardiothorac.Surg.* 16 (2):211-217, 1999.
- {124} P. Zilla, R. Fasol, P. Groscurth, W. Klepetko, H. Reichenspurner, and E. Wolner. Blood platelets in cardiopulmonary bypass operations. Recovery occurs after initial stimulation, rather than continual activation. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* 97 (3):379-388, 1989.

DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. G. Ziemer danke ich für die Überlassung des Themas der vorliegenden Arbeit sowie für die Bereitstellung der Arbeitsmaterialien des klinischen Forschungslabors.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. rer. nat. H.-P. Wendel für die wissenschaftliche Betreuung und die stets freundliche Beratung in Bezug auf die Fertigstellung der Arbeit.

Des Weiteren möchte ich mich herzlich bei allen Mitarbeitern des Forschungslabors der Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie Tübingen, insbesondere bei Frau Doris Armbruster für die ständige Hilfsbereitschaft und die angenehme Arbeitsatmosphäre bedanken.

LEBENS LAUF

Name: Sperl
Vornamen: Kristina Jennifer Elisabeth
Geburtsdatum: 22.05.1979
Geburtsort: Tübingen
Eltern: Günther Sperl, Oberstudienrat, Ingeborg Sperl, Lehrerin
Geschwister: drei
Familienstand: ledig
Staatsangehörigkeit: deutsch

Schulische Ausbildung:

- Besuch der Grundschule Winkelwiese/ Waldhäuser-Ost in Tübingen von 1985 – 1989
- Besuch des Geschwister-Scholl-Gymnasiums in Tübingen von 1989 – 1998
- Allgemeine Hochschulreife am 19.06.1998 in Tübingen

Studium:

- Immatrikulation für das Fach Zahnmedizin im WS 1998/99 an der Eberhard Karls Universität Tübingen
- Naturwissenschaftliche Vorprüfung am 15.10.1999 in Tübingen
- Zahnärztliche Vorprüfung am 04.04.2001 in Tübingen
- Bestehen der zahnärztlichen Prüfung am 17.11.2003 in Tübingen
- Erteilung der Approbation als Zahnärztin am 05.12.2003