

Anaesthesist 2014  
 DOI 10.1007/s00101-014-2325-8  
 Eingegangen: 20. Januar 2014  
 Überarbeitet: 7. März 2014  
 Angenommen: 31. März 2014  
 © Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Redaktion  
 R. Rossaint, Aachen

C. Reyher<sup>1</sup> · T.M. Bingold<sup>1</sup> · S. Menzel<sup>1</sup> · K. Zacharowski<sup>1</sup> · M. Müller<sup>2</sup> · A. Pape<sup>1</sup> · C.F. Weber<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie, Universitätsklinikum Frankfurt a. M.

<sup>2</sup> Institut für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie, Universitätsklinikum Frankfurt a. M.

## Einfluss der akuten normovolämischen Hämodilution auf die primäre Hämostase

**Die akute normovolämische Hämodilution (ANH) stellt ein Verfahren zur Reduktion der perioperativen Transfusionsrate allogener Blutprodukte dar. Hierbei wird dem Patienten, häufig zwischen der Einleitung der Anästhesie und dem ersten Hautschnitt, Vollblut entnommen und das entnommene Volumen durch kristalloide bzw. kolloidale Infusionslösung ersetzt. Bei einer intraoperativen Anämie oder Koagulopathie kann dann dem Patient sein eigenes Blut retransfundiert werden. Es ist denkbar, dass sowohl die Art und Weise der Lagerung als auch die Lagerungszeit Einfluss auf die Qualität der Vollblutprobe haben. Ob sich während der Lagerung des Vollbluts Änderungen in der Thrombozytenfunktion ergeben, wurde mit der vorliegenden Studie untersucht.**

### Hintergrund und Fragestellung

Die Transfusion von Fremdblut stellt einen unabhängigen Risikofaktor für Sepsis, Multiorganversagen und Mortalität dar [1, 13, 20]. Um die perioperative Transfusionsrate allogener Blutprodukte zu minimieren, werden verschiedene „fremdblutsparende Methoden“ angewendet. Neben der präoperativen Eigenblutspende und der maschinellen Autotransfusion zählt die in den 1970er Jahren erstmals beschriebene ANH dazu [12].

Die ANH wird häufig zwischen der Einleitung einer Anästhesie und dem ersten Hautschnitt durchgeführt. Hier-

bei wird dem Patient über einen venösen Zugang Blut in einen mit einer Additivlösung präparierten Beutel entnommen. Zur Aufrechterhaltung der intravasalen Normovolämie wird die Menge des entnommenen Blutes üblicherweise durch die 3- bis 4-fache Menge isotoner kristalloider bzw. die gleiche Menge isoonkotischer kolloidaler Infusionslösung ersetzt [8]. Durch die ANH verliert der Patient im Fall einer intraoperativen Blutung weniger Erythrozyten/ml verlorenen Blutes. Ferner steht zur Therapie einer intraoperativen Anämie oder Koagulopathie Vollblut mit der präoperativ vorhandenen physiologischen Konzentration von Gerinnungsfaktoren und Thrombozyten zur Verfügung.

Die ANH ist allerdings nicht unumstritten. In den „Aktuellen Empfehlungen zur autologen Hämotherapie“ des Arbeitskreises Blut des Bundesministeriums für Gesundheit und Soziale Sicherung [6] wird beschrieben, dass die ANH in Deutschland wegen ihrer geringen Effizienz nur noch selten eingesetzt würde. Diese These wird durch mehrere Metaanalysen gestützt [2, 15, 16].

Abgesehen von der möglicherweise geringeren Effizienz gegenüber anderen fremdblutsparenden Verfahren bestehen bei der ANH erhöhte Transfusionsrisiken, die mit Hämolyse, Verwechslung [22] und Kontamination [14] der Blutprobe assoziiert sind. In den *Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten* der Bundesärztekammer [4] wird im Kapitel „Perioperativ herge-

stellte Blutpräparationen“ beschrieben, dass die besonders zu kennzeichnenden (Name, Vorname und Geburtsdatum des Patienten sowie Datum und Uhrzeit des Beginns der Entnahme) Blutpräparationen nicht lagerungsfähig und innerhalb von 6 h nach Beginn der Entnahme zu transfundieren seien. Die Blutpräparation wird bis zum Zeitpunkt der Transfusion weder gekühlt noch standardisiert agitiert aufbewahrt.

Es ist durchaus denkbar, dass sich während der bis zu 6-stündigen Lagerung der Blutpräparation am ehesten multifaktoriell bedingte Änderungen der Thrombozytenfunktion ergeben. Die Exposition gegenüber „fremden Oberflächen“, die Interaktion mit dem Antikoagulans sowie Stase und Temperaturveränderungen während der Lagerung könnten Ursachen hierfür sein. Bisher ist keine Studie durchgeführt worden, in der die Thrombozytenfunktion in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer einer für die ANH entnommenen Blutpräparation untersucht wurde. Ziel der vorliegenden Untersuchung war es deshalb, mithilfe repetitiv durchgeführter aggregometrischer Untersuchungen potenzielle Änderungen in der Aktivierbarkeit von Thrombozyten zu erfassen und möglicherweise Rückschlüsse auf das hämostatische Potenzial der Blutpräparation ziehen zu können.

C. Reyher und T. Bingold trugen im gleichen Maß zur Publikation bei. Aus diesem Grund wird die Erstautorschaft geteilt.

## Studiendesign und Untersuchungsmethoden

### Observationsstudie

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine prospektive Observationsstudie.

### Patientenkollektiv

Das Studienkollektiv bestand aus Patienten, die sich einer elektiv indizierten komplexen kardiochirurgischen Operation unterzogen. Es wurden solche Operationen als „komplexe“ Prozeduren angesehen, bei denen entweder mehrere Herzklappen ersetzt oder rekonstruiert wurden oder bei denen eine Koronarrevaskularisation und eine Klappenoperation durchgeführt wurden. Waren die dafür notwendigen Voraussetzungen erfüllt (s. Abschn. „Durchführung der akuten normovolämischen Hämodilution“), erfolgte auf der Grundlage des zum Zeitpunkt der Studiendurchführung geltenden klinikinternen Standards routinemäßig die ANH.

### Einschlusskriterien

Folgende Parameter wurden als Einschlusskriterien definiert:

- Patientenalter >18 Jahre,
- präoperative Thrombozytenzahl >100/nl.

### Ausschlusskriterien

Folgende Parameter wurden als Ausschlusskriterien definiert:

- präoperativ nicht mindestens über 5 Tage pausierte Einnahme von Medikamenten mit Einfluss auf die thrombozytäre Aggregation [z. B. Acetylsalicylsäure (ASS<sup>®</sup>), Clopidogrel (Plavix<sup>®</sup>) oder Abciximab (ReoPro<sup>®</sup>)],
- Schwangerschaft.

### Durchführung der akuten normovolämischen Hämodilution

Eine „standard operating procedure“ (SOP) der Klinik für Anästhesie, Intensivmedizin und Schmerztherapie am Universitätsklinikum Frankfurt definierte die Voraussetzungen für die Durchführung der ANH. Demnach konnte eine ANH

nur dann erfolgen, wenn sie im präoperativen Aufklärungsgespräch explizit angesprochen worden war und der Patient in die Durchführung dieses Verfahrens eingewilligt hatte. Eine weitere Voraussetzung für den Beginn einer ANH war, dass die direkt vor dem Beginn der Blutentnahme bestimmte Hämoglobin(Hb)-Konzentration bei Männern >13 g/dl (>8 mmol/l) und bei Frauen >12 g/dl (>7,5 mmol/l) betrug.

Die ANH wurde streng unter sterilen Kautelen vorgenommen. Grundsätzlich war eine Blutentnahme über einen großlumigen peripheren oder zentralen Zugang möglich. Nach venöser Punktion wurde ein vom „DRK – Blutspendedienst Baden-Württemberg – Hessen gemeinnützige GmbH“ bereitgestellter Entnahmebeutel (Compoflex<sup>®</sup> Blutbeutelssystem, Fa. Fresenius Kabi, Bad Homburg) an den venösen Zugang adaptiert. Das Blut floss der Schwerkraft folgend in den Beutel, ohne dass eine Aspiration am Zugang notwendig war. Der Beutel war herstellerseitig mit einer antikoagulanshaltigen Additivlösung (Zitratphosphatdextroseadenin-1, CPDA-1) versehen. Um die Durchmischung des Blutes mit der Additivlösung zu ermöglichen, wurde der Beutel in der Folge in unregelmäßigen Abständen leicht geschwenkt; eine standardmäßige Agitation, wie etwa bei Thrombozytenkonzentraten üblich, erfolgte nicht.

Nach Entnahme des Blutes wurde der Beutel verschlossen und mit Patientendaten (Name, Vorname und Geburtsdatum des Patienten) sowie der Zeit des Beginns der Blutentnahme beschriftet. Bis zum Zeitpunkt der üblicherweise am Ende der Operation vorgenommenen Retransfusion der Blutpräparation blieb der Beutel in direkter Nähe des Patienten. Eine Retransfusion der Blutpräparation erfolgte nicht zwangsläufig immer, sondern nur dann, wenn die Kriterien für eine Fremdbluttransfusion zur Therapie einer Anämie oder einer Koagulopathie erfüllt waren. Die maximale Lagerungsdauer betrug 6 h ab dem Zeitpunkt des Beginns der Blutentnahme.

## Hämatologische Analysen

### Konventionelle Gerinnungsdiagnostik und Blutgasanalyse

Hämatologische Untersuchungen umfassten die konventionelle laboranalytische Gerinnungsdiagnostik, Blutgasanalysen und aggregometrische Messungen mit der Multiplen-Elektroden-Aggregometrie mithilfe des Multiplate<sup>®</sup>-Systems (MEA; Fa. Roche AG, Grenzach, Deutschland).

Die Thrombozytenzahl der Studienteilnehmer wurde im Rahmen der präoperativ routinemäßig stattfindenden konventionellen Gerinnungsdiagnostik im Zentrallabor des Universitätsklinikums Frankfurt in Vollautomaten zur Gerinnungsanalyse durchgeführt (STA-R Evolution<sup>®</sup>, Fa. Roche AG, Grenzach) bestimmt.

Die Blutgasanalysen (BGA) zur Bestimmung der Plasmakonzentration von Hb, ionisiertem Kalzium (Ca<sub>i</sub>) und dem pH-Wert erfolgten mit dem BGA-Gerät S825 (Radiometer GmbH, Fa. Willich, Deutschland).

### Multiple-Elektroden-Aggregometrie

Die Methode der MEA mit dem Multiplate<sup>®</sup> basiert auf der klassischen Impedanzaggregometrie nach Cardinal u. Flower [5], nach der sich in-vitro-stimulierte Thrombozyten an die Oberfläche von Sensordrähten anheften und damit, abhängig vom Ausmaß der Aggregation, den elektrischen Widerstand zwischen den Drähten erhöhen. Das Multiplate<sup>®</sup> verfügt über 5 Messzellen für parallele Messungen, und jede Messzelle enthält 2 unabhängige Sensordrahtpaare zur Doppelmessung als Qualitätskontrolle. Vor der eigentlichen Messung wurden 300 µl vorgewärmte (37°C) Kochsalzlösung mit dem mithilfe von Heparin antikoagulierten Blut (300 µl) über eine 3-minütige Inkubationszeit in der Testzelle vermischt. Die Thrombozytenaggregation wurde danach parallel mit 32 µM thrombinrezeptoraktivierendem Peptid 6 (TRAP-6, TRAPtest), 0,5 mM Arachidonsäure (ASPItest) oder 6,4 µM Adenosindiphosphat (ADPtest) unter Einsatz der vom Hersteller erhältlichen Reagenzien durchgeführt. Die Widerstandsänderung zwischen den Sensordrähten wurde auto-

C. Reyher · T.M. Bingold · S. Menzel · K. Zacharowski · M. Müller · A. Pape · C.F. Weber

**Einfluss der akuten normovolämischen Hämodilution auf die primäre Hämostase****Zusammenfassung**

**Hintergrund.** Die akute normovolämische Hämodilution (ANH) ist ein fremdblutsparendes Verfahren. Das dem Patienten direkt präoperativ entnommene Blut kann nach maximal 6-stündiger Lagerungsdauer intra- oder postoperativ zur Therapie einer Anämie oder einer Koagulopathie verwendet werden.

**Ziel der Arbeit.** In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob sich das Aggregationspotenzial von Thrombozyten aus der im Rahmen einer ANH hergestellten Blutpräparation während dessen Lagerung verändert.

**Material und Methoden.** In diese prospektive Observationsstudie wurden 15 Patienten aufgenommen, die sich einem kardiochirurgischen Eingriff unterzogen und bei denen standardmäßig eine ANH durchgeführt wurde. Neben den Bestimmungen des pH-Werts sowie der Konzentrationen von ionisiertem

Kalzium (Ca<sub>i</sub>) und Hämoglobin (Hb) wurden aggregometrische Untersuchungen mit der Multiplen-Elektroden-Aggregometrie (MEA, Multiplate®; Fa. Roche AG, Grenzach) durchgeführt. Die Messungen erfolgten vor Beginn der ANH (Baseline) sowie zu Beginn (T<sub>1</sub>) bzw. 30 (T<sub>2</sub>), 60 (T<sub>3</sub>), 90 (T<sub>4</sub>), 120 (T<sub>5</sub>), 150 (T<sub>6</sub>) und 180 min (T<sub>7</sub>) nach Beginn der Lagerung. Die Flächen unter den Aggregationskurven [“area under the curve“ (AUC), (U)] der MEA wurden als primäre (ASPItest) bzw. sekundäre (ADPtest, TRAPtest) Zielparameter definiert.

**Ergebnisse.** Verglichen mit der zur Baseline erfassten Aggregation im ASPItest [77 U (68/94 U)] war die Aggregation zu T<sub>1</sub> [53 U (25/86 U); p=0,003] und zu jedem folgenden Messezeitpunkt signifikant geringer. Verglichen mit der Aggregation zu T<sub>1</sub> war die Aggregation zu T<sub>4</sub> [26 U (14/54 U); p=0,002], T<sub>5</sub>

[30 U (21/36 U); p=0,007], T<sub>6</sub> [25 U (17/40 U); p=0,004] und T<sub>7</sub> [28 U (17/39 U); p<0,001] signifikant niedriger. Der pH-Wert sowie die Konzentration von Ca<sub>i</sub> und Hb blieben während der Studiendauer unverändert.

**Schlussfolgerung.** Die Ergebnisse der vorliegenden Studie weisen darauf hin, dass sich im Rahmen einer ANH hergestellten Blutpräparationen Einschränkungen der Thrombozytenaggregation ergeben können. Ob das in dieser Studie beobachtete Phänomen von hämostaseologischer Relevanz ist, sollte in zukünftigen Arbeiten untersucht werden.

**Schlüsselwörter**

Blutpräservierung · Thrombozytenfunktionstest · Thrombozytenaggregation · „Multiplate“ · Präoperative Versorgung

**Impact of acute normovolemic hemodilution on primary hemostasis****Abstract**

**Background.** Acute normovolemic hemodilution (ANH) is performed with the intention to reduce the requirement for allogeneic blood transfusions. After preoperative withdrawal of whole blood, corresponding amounts of crystalloids and/or colloids are infused to maintain normovolemia. The main benefit of ANH is the availability of whole blood containing red blood cells, clotting factors and platelets for reinfusion after removal during the dilution process. Until retransfusion whole blood components are stored at the patient's bedside in the operating theatre.

**Aim.** It was the aim of the present investigation to analyze potential changes in ex vivo induced platelet aggregation in stored blood components.

**Material and methods.** After obtaining approval 15 patients undergoing complex cardiac surgery were enrolled into this prospective observational study. Acute normovolemic hemodilution (ANH) was routinely performed in this collective based on institution-

al standards. Besides analyses of pH and plasma concentrations of ionized calcium and hemoglobin, hematological analyses included aggregometric measurements using multiple electrode aggregometry (MEA, Multiplate®, Roche, Grenzach, Germany). Ex vivo platelet aggregation was induced using arachidonic acid (ASPI test), as well as thrombin receptor activating peptide (TRAP test) and adenosine diphosphate (ADP test). Laboratory analyses were performed before beginning ANH (baseline), as well as immediately (T<sub>1</sub>), 30 min (T<sub>2</sub>), 60 min (T<sub>3</sub>), 90 min (T<sub>4</sub>), 120 min (T<sub>5</sub>), 150 min (T<sub>6</sub>) and 180 min (T<sub>7</sub>) after beginning of storage. The areas under the aggregation curves (AUC) in the MEA were defined as primary (ASPI test) and secondary endpoints (ADP test, TRAP test).

**Results.** As compared to baseline, arachidonic acid induced platelet aggregation was significantly reduced at T<sub>1</sub> [77 U (68/94 U) vs. 53 U (25/86 U), p=0.003] and each consecutive measuring point. As compared to T<sub>1</sub> (begin of storage), arachidonic acid in-

duced platelet aggregation was significantly reduced at T<sub>4</sub> [26 U (14/54 U); p=0.002], T<sub>5</sub> [30 U (21/36 U); p=0.007], T<sub>6</sub> [25 U (17/40 U); p=0.004] and T<sub>7</sub> [28 U (17/39 U); p<0.001]. The extent of ex vivo induced platelet aggregation in the TRAP test and ADP test remained unchanged during the study period. The pH as well as the concentrations of ionized calcium and hemoglobin remained unchanged in the blood component during storage.

**Conclusion.** The results of the present study indicate that disturbances of platelet aggregation may occur during storage of whole blood components prepared for the purpose of ANH. Further investigations are needed to analyze whether the observed phenomena are of hemostatic relevance.

**Keywords**

Blood preservation · Platelet function tests · Platelet aggregation · Multiplate · Preoperative care

matisch über einen Zeitraum von 6 min erfasst und in Aggregationseinheiten (AU) grafisch gegen die Zeit aufgetragen. Die Aggregation pro Test wurde als „area under the curve“ (AUC, U) quantifiziert. Normwerte waren vom Hersteller an gesunden Testpersonen erfasst worden; sie

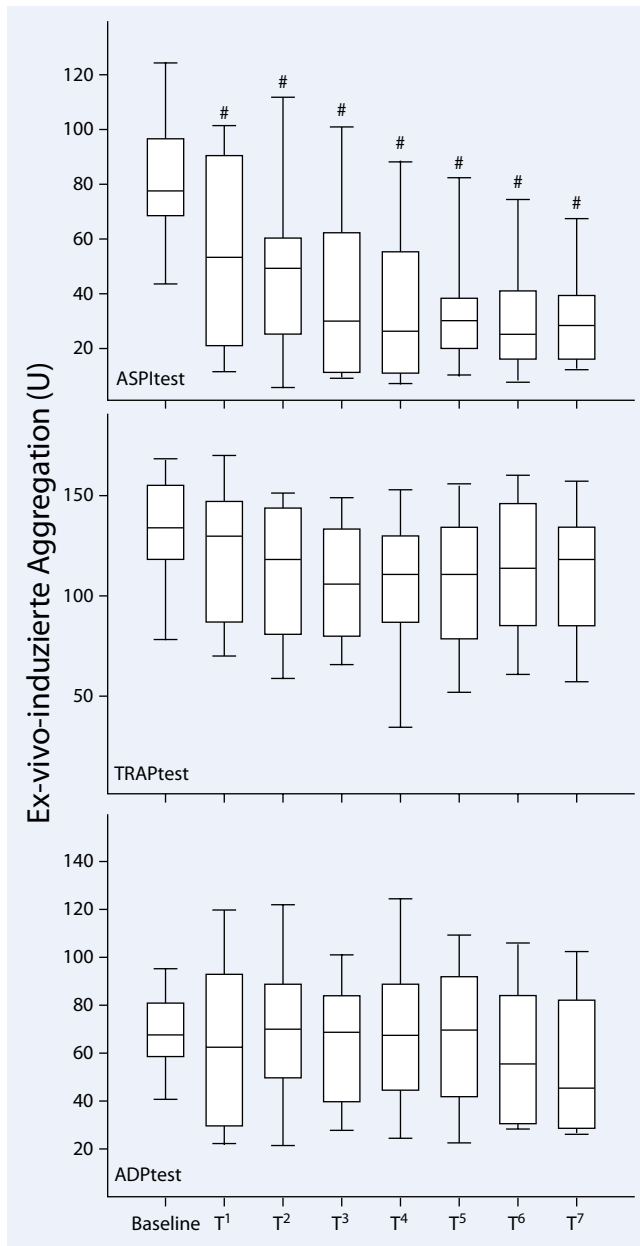
betragen 92–151 U im TRAPtest, 79–141 U im ASPItest und 55–117 U im ADPtest.

Die Qualitätskontrollen erfolgten an jedem der genannten Geräte unter Berücksichtigung der jeweiligen Herstellerangaben und der „Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung

quantitativer laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen (RiliBÄK-Labor)“ [3].

**Studienablauf und Zielparameter**

Die präoperative Thrombozytenzahl wurde mit der routinemäßig stattfindenden



**Abb. 1** ◀ ASPI-, TRAP- und ADPtest der Multiplen-Elektroden-Agregometrie. Doppelkreuz signifikanter Unterschied in Relation zur Baseline-Messung

den präoperativen Gerinnungsdiagnostik erfasst. Vor Beginn der ANH wurden eine BGA-Analyse zur Bestimmung von Hb, Ca<sub>i</sub> und pH sowie eine MEA-Messung (Baseline) durchgeführt. Nach Studieneinschluss und Beginn der ANH erfolgte die Erfassung soziodemografischer und operationsrelevanter Parameter.

Im Anschluss an die Blutentnahme wurde der Beutel mit einem Adapter verschlossen, der sich öffnen und wieder verschließen ließ. Über diesen Verschluss wurden direkt nach der Blutentnahme (BE; T<sub>1</sub>) und während der folgenden 180 min in 30-minütigem Abstand Blutproben entnommen (30 min nach BE: T<sub>2</sub>,

60 min nach BE: T<sub>3</sub>, 90 min nach BE: T<sub>4</sub>, 120 min nach BE: T<sub>5</sub>, 150 min nach BE: T<sub>6</sub> und 180 min nach BE: T<sub>7</sub>). Für die BGA und MEA wurden die Blutproben in jeweils einem mit Heparin antikoagulierten und kalziumbalancierten 2-ml-Röhrchen (Blutgas-Monovette®, Fa. Sarstedt AG, Nümbrecht) entnommen.

### Zielparameter

Die AUC (U) im ASPItest der MEA wurde als primärer Zielparameter definiert. Die präoperative Thrombozytenzahl (/nl) sowie die Flächen unter den Aggregationskurven AUC (U) im TRAPtest und

ADPtest der MEA wurden als sekundäre Zielparameter definiert.

### Fallzahlenanalyse und statistische Auswertung

Als primäre Zielvariable wurde vor Beginn der Untersuchung das Ausmaß der Thrombozytenaggregation im ASPItest der MEA definiert. Es existieren keine vergleichbaren Studien über die Veränderung der Aggregation im ASPItest in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer der Blutpräparationen während ANH. Als Grundlage für die Fallzahlenanalyse fungierten deshalb die Ergebnisse einer Studie, die Veränderungen des thrombozytären Aggregationspotenzials nach Stimulation mit ADP in vollheparinisierten Blutproben, die vor Beginn einer extrakorporalen Zirkulation (ECC) entnommen und für die Dauer der ECC in Beuteln gelagert worden waren, erfasst hatte [7]. Demnach sank während der Lagerung im Beutel der Mittelwert der Aggregation im ADPtest von 55 auf 45 U – also um ca. 18%. Weil in der vorliegenden Studie die Blutpräparation nicht vollheparinisiert wurde, wurde die zu erwartende Veränderung im ASPItest als geringer ausgeprägt antizipiert: Die durchgeführte „Sample-size“-Analyse (erwartete Differenz der Mittelwerte der Aggregation im ASPItest 10 U, erwartete Standardabweichung 12 U, Power 0,8) ergab eine Mindestgruppengröße von n=14.

Die Ergebnisse der Aggregation in der MEA waren nicht in jedem Test normal verteilt (Kolmogorow-Smirnow-Test). Aus Gründen der Homogenität und unter Berücksichtigung der relativ hohen Standardabweichung bei relativ kleiner Fallzahl wurde zur Analyse der Veränderungen der Aggregation in ASPI-, ADP- und TRAPtest in Abhängigkeit von der Zeit ein nichtparametrischer Test für wiederholte Messungen (nach Friedman) eingesetzt. Wenn nicht anders erwähnt, wurden die Daten als Mittelwert ± Standardabweichung oder Median (25/75-Perzentile) dargestellt. Die statistische Auswertung und grafische Darstellung der Ergebnisse erfolgten mit den Programmen SigmaStat 3.5 und SigmaPlot 11 (Fa. Systat Software GmbH, Erkrath).

**Tab. 1** Die Konzentration von Hämoglobin (Hb) und ionisiertem Kalzium (Ca<sub>i</sub>) sowie pH-Wert während der Studiendauer in vivo (Baseline) und in der Blutpräparation (T<sub>1</sub>–T<sub>7</sub>).

	Baseline	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>	T <sub>6</sub>	T <sub>7</sub>
Hb (g/dl)	13,9±0,8	11±1,3	11±1,3	11±1,3	11±1,3	10,9±1,3	10,9±1,3	10,9±1,3
Ca <sub>i</sub> (mmol/l)	1,2±0,03	1,2±0,05	1,2±0,05	1,2±0,05	1,2±0,06	1,2±0,06	1,2±0,05	1,2±0,05
pH-Wert	7,4±0,06	7,4±0,05	7,5±0,05	7,5±0,05	7,4±0,06	7,4±0,06	7,4±0,05	7,3±0,09

Die Werte sind als Mittelwert ± Standardabweichung angegeben.

## Ergebnisse

Es wurden 15 Patienten in die Studie aufgenommen. Elf Patienten unterzogen sich einem Aortenklappenersatz (AKE) in Kombination mit einer Koronararteriosklerosierung, und 4 Patienten erhielten einen Eingriff an mehreren Herzklappen (AKE und Mitralklappenrekonstruktion bzw. Ross-Operation). Es waren 12 Patienten (80%) männlich. Das Durchschnittsalter betrug 64±11 Jahre und der Body-Mass-Index (BMI) 28±3 kg/m<sup>2</sup>.

In der präoperativ durchgeführten konventionellen Gerinnungsanalyse war die durchschnittliche Thrombozytenkonzentration der Teilnehmer vor Aufnahme in die Studie mit 229±52 Thrombozyten/nl bestimmt worden. Die durchschnittliche Hb-Konzentration vor Beginn der ANH betrug 13,9±0,8 g/dl.

Die ex-vivo-induzierte Thrombozytenaggregation im ASPI-, TRAP- und ADPtest zu den verschiedenen Messzeitpunkten ist in **Abb. 1** dargestellt. Verglichen mit der zur Baseline erfassten Aggregation im ASPItest [77 U (68/94 U)] war die Aggregation zu T<sub>1</sub> [53 U (25/86 U); p=0,003] und jedem folgenden Messzeitpunkt signifikant geringer. Verglichen mit der Aggregation zu T<sub>1</sub> (Beginn der Lagerung) war die Aggregation zu T<sub>4</sub> [26 U (14/54 U); p=0,002], T<sub>5</sub> [30 U (21/36 U); p=0,007], T<sub>6</sub> [25 U (17/40 U); p=0,004] und T<sub>7</sub> [28 U (17/39 U); p<0,001] signifikant niedriger.

Die ex-vivo-induzierten Aggregationen in TRAPtest und ADPtest veränderten sich während der Studiendauer nicht. Die zu jedem Messzeitpunkt erfassten Konzentrationen von Hb und Ca<sub>i</sub> sowie die pH-Werte während der Studiendauer sind in **Tab. 1** aufgeführt. Während der Studiendauer (T<sub>1</sub>–T<sub>7</sub>) blieben Hb, Ca<sub>i</sub> und pH-Wert der Blutpräparation unverändert.

## Diskussion

Als primärer Zielparame-ter dieser Studie wurde die Fläche unter der Aggregationskurve im ASPItest der MEA gewählt. Die mithilfe von Arachidonsäure induzierte und via Zyklooxygenase I und Thromboxan A<sub>2</sub> vermittelte thrombozytäre Aggregation hat sich in vorherigen Studien als sensibler Test zur Bestimmung der Thrombozytenfunktion herausgestellt. Auch außerhalb seiner Hauptindikation – der Erfassung des antiaggregatorischen Effekts von Inhibitoren der Zyklooxygenase I – wird der ASPItest zur Detektion und zum Therapiemonitoring von unspezifischen Thrombozytenfunktionsstörungen verwendet [21].

Das primäre Ergebnis der vorliegenden Studie zeigte, dass sich die ex vivo durch Arachidonsäure induzierte Aktivierbarkeit von Thrombozyten in im Rahmen einer ANH hergestellten Blutpräparationen im Verlauf ihrer Lagerungsdauer in Relation zur Ausgangslage zu Beginn der Lagerungszeit signifikant reduzierte. Interessanterweise war die Aggregation bereits zu T<sub>1</sub> – also direkt nach dem Beginn der Lagerung – gegenüber dem Ergebnis der in vivo erhaltenen Baseline-Messung reduziert. Im weiteren Verlauf der Lagerung war ab dem Messzeitpunkt T<sub>4</sub> (90 min nach Beginn der Lagerung) und an jedem folgenden Messzeitpunkt bis zum Ende des Studienzeitraums die Aggregation im ASPItest gegenüber der Baseline und T<sub>1</sub> signifikant geringer.

Die Ergebnisse dieser Studie deuten darauf hin, dass die Dauer der Lagerung der Blutpräparation nicht ausschließlich für die verminderte Aggregation im ASPItest der MEA verantwortlich gemacht werden kann. Vielmehr sprechen die Ergebnisse der vorliegenden Studie dafür, dass die sich entwickelnde reduzierte thrombozytäre Aktivierbarkeit multifaktoriell bedingt sein muss. Neben

der Dauer der Lagerung [11] kommen am ehesten Effekte der Additivlösung, einschließlich des darin enthaltenen Antikoagulans und der sich während der Lagerung verändernden Temperatur der Blutpräparation, für die zunehmend reduzierte Aggregation im ASPItest infrage. Ferner könnten Änderungen des Hämatokrits, des pH-Werts, der Kalziumkonzentration oder der Thrombozytenzahl für eine verminderte Aggregation in der MEA verantwortlich sein [9, 10, 23]. Inwieweit eine Agitation der Präparation für den Erhalt der Thrombozytenfunktion relevant ist, ist bisher nur unzureichend untersucht worden. Es gibt zu diesem Thema lediglich Studien unter Verwendung von Thrombozytenkonzentraten; Zielparame-ter dieser Studien waren aber nicht Ergebnisse aggregometrischer Messungen, sondern Parameter wie die Laktat- oder Glucosekonzentration innerhalb der Thrombozytenkonzentrate als Surrogat für die Plättchenfunktion. Demnach sei eine Unterbrechung der Agitation ohne thrombozytäre Funktionseinschränkungen über mehrere Tage möglich [18].

Die vor Beginn der Blutentnahme bestimmte durchschnittliche Thrombozytenzahl der Studienteilnehmer betrug 229±52/nl und lag damit deutlich über der für reliable MEA-Messungen kritischen Grenze von 100/nl. Ferner zeigt **Tab. 1**, dass die Hb- sowie Ca<sub>i</sub>-Konzentrationen und der pH-Wert während des Studienzeitraums in der Blutpräparation unverändert blieben.

Die Additivlösung des in dieser Studie verwendeten Beutels zur Herstellung der Blutpräparation enthielt als Antikoagulans Natriumzitrat. Es ist durchaus denkbar, dass die Zitratantikoagulation zu einer Beeinträchtigung der Thrombozytenfunktion führt. In diesem Zusammenhang beschrieben In-vitro-Untersuchungen mit dem Multiplate®-System sponta-



ne Aggregationen in mit Zitrat antikoagulierten Blutproben, die am ehesten auf eine Restwirkung von Thrombin zurückzuführen seien [17]. Die Interpretation der Ergebnisse wird auch dadurch erschwert, dass bei konstanter Menge der Additivlösung die pro Patient entnommenen Blutvolumina variierten. Die Entnahme einer einheitlichen Menge war aus klinischen und methodischen Gründen nicht möglich.

Aus methodischen Gründen war es ferner nicht möglich, die Temperatur in der Blutpräparation zu erfassen. Es ist sehr wahrscheinlich, dass sich diese bei Lagerung im zwischen 19 und 21°C warmen OP während der 180-minütigen Studiendauer deutlich reduziert hat. Es ist bekannt, dass Thrombozytopathien durch Hypothermie induziert werden. Ob es sich hierbei um einen reversiblen Effekt handelt, ist bisher noch nicht abschließend untersucht worden. Vor diesem Hintergrund ist es denkbar, dass die beobachtete verminderte Aggregation im ASPtest auf Temperaturveränderungen in der Blutprobe zurückzuführen ist.

Sekundäre Zielparameter dieser Studien waren die Flächen unter den Aggregationskurven im TRAP- und ADPtest der MEA. Die im TRAPtest verwendete Stimulation über den Thrombinrezeptor ist ein äußerst starker Aktivator der Thrombozytenaggregation. Offenbar war das Ausmaß der im ASPtest beobachteten thrombozytären Aggregationsstörung nicht gravierend genug, um sich auch durch eine verminderte Aggregation im TRAPtest bemerkbar zu machen. Ähnliches gilt für den ADPtest. Obwohl Untersuchungen anderer Arbeitsgruppen demonstrierten, dass die Aggregation im ADPtest durch Einflüsse von Lagerung [11] und extrakorporaler Zirkulation [19] mitbestimmt wird, blieb das Ausmaß der ADP-induzierten Aggregation in der vorliegenden Studie unverändert. Die Frage, warum es im Verlauf der Lagerung lediglich in der arachidonsäureinduzierten Aggregation zu signifikanten Veränderungen kam, und ob es sich hierbei um einen hämostaseologisch relevanten Effekt handelt, konnte durch die aktuelle Studie nicht beantwortet werden.

Eine kausale Klärung der am ehesten multifaktoriell bedingten beobachte-

ten Effekte wäre auch dann nicht sicher möglich gewesen, wenn potenzielle Änderungen der Thrombozytenzahl und der Temperatur quantifiziert worden wären. Wegen der limitierten Aussagekraft von MEA-Analysen sollten künftige Untersuchungen lichttransmissionsaggregometrische und durchflusszytometrische Methoden verwenden, um den Effekt der Lagerung in Vollblutpräparationen genauer beschreiben zu können.

Die vorliegende Studie ist allerdings auch trotz ihrer eingeschränkten Aussagekraft von klinischer Relevanz. Erstmals konnte gezeigt werden, dass sich während der Lagerung von im Rahmen einer ANH hergestellten Blutpräparation in vitro Thrombozytenfunktionsstörungen entwickeln können. Inwieweit diese allerdings auch nach der Retransfusion persistierend und von hämostaseologischer Relevanz sind, muss in künftigen Studien eruiert werden.

## Schlussfolgerung

Am ehesten multifaktoriell bedingt, kommt es in im Rahmen einer ANH hergestellten Blutpräparationen zu einer Reduktion der arachidonsäureinduzierten Thrombozytenaggregation. Inwieweit dies von klinischer Relevanz ist, muss in künftigen Studien untersucht werden.

## Fazit für die Praxis

**Die Reduktion der arachidonsäureinduzierten Aggregation in der Blutpräparation kann auf die Entwicklung von Thrombozytenfunktionsstörungen hinweisen. Das Ausmaß der in vitro mithilfe von ADP und Thrombin induzierten Aggregation bleibt während einer mindestens 180-minütigen Lagerungsdauer der Blutpräparation unverändert. Die den beobachteten Effekten zugrunde liegenden Ursachen sind am ehesten multifaktoriell. Ob die Effekte von hämostaseologischer Relevanz sind, konnte in der vorliegenden Studie nicht erfasst werden.**

## Korrespondenzadresse

**PD Dr. C.F. Weber**

Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie, Universitätsklinikum Frankfurt Theodor-Stern-Kai 7, 60590 Frankfurt a. M. Christian.Weber@kgu.de

## Einhaltung ethischer Richtlinien

**Interessenkonflikt.** C. Reyher, T. Bingold, S. Menzel, K. Zacharowski, M. Müller, A. Pape geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht. C.F. Weber hat von den Firmen Verum Diagnostica und Roche Honorare für Bera-tertätigkeit und wissenschaftliche Vorträge erhalten.

Alle im vorliegenden Manuskript beschriebenen Untersuchungen am Menschen wurden mit Zustimmung der zuständigen Ethikkommission (Gesch.-Nr: 6912), im Einklang mit nationalem Recht sowie gemäß der Deklaration von Helsinki von 1975 (in der aktuellen, überarbeiteten Fassung) durchgeführt.

## Literatur

- Bernard AC, Davenport DL, Chang PK et al (2009) Intraoperative transfusion of 1 U to 2 U packed red blood cells is associated with increased 30-day mortality, surgical-site infection, pneumonia, and sepsis in general surgery patients. *J Am Coll Surg* 208:931–937
- Bryson GL, Laupacis A, Wells GA (1998) Does acute normovolemic hemodilution reduce perioperative allogeneic transfusion? A meta-analysis. *The International Study of Perioperative Transfusion. Anesth Analg* 86:9–15
- Bundesärztekammer (2007) Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen, Zweite Richtlinienanpassung 2010. *Dtsch Arztlbl* 105:A341–A355
- Bundesärztekammer (2007) Richtlinien der Bundesärztekammer zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie), Kap. 4.6.5: perioperativ hergestellte Blutpräparationen. ISBN-Nr. 978-3-7691-1294-8. Deutscher Ärzteverlag, Köln. Richtlinienanpassung 2010. <http://www.bundesaerztekammer.de/downloads/RiliiHaemotherapie2010.pdf>:90
- Cardinal DC, Flower RJ (1979) The study of platelet aggregation in whole blood [proceedings]. *Br J Pharmacol* 66:94P–95P
- Deutsche Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin/Berufsverband Deutscher Anästhesisten (2011) Entschlüsse, Empfehlungen, Vereinbarungen: aktuelle Empfehlungen zur autologen Hämotherapie. Mitteilung des Arbeitskreises Blut des Bundesministeriums für Gesundheit und Soziale Sicherung – ein Beitrag zur Qualitätssicherung in der Anästhesiologie. ISBN 978-3-932653-36-0. [http://www.bda.de/eev/EEV\\_2011\\_S\\_489-492.pdf](http://www.bda.de/eev/EEV_2011_S_489-492.pdf)
- Gallandat Huet RC, De Vries AJ, Cernak V, Lisman T (2012) Platelet function in stored heparinised autologous blood is not superior to in patient platelet function during routine cardiopulmonary bypass. *PLoS One* 7:e33686

- 
8. Habler O, Kleen M, Podtschaske A et al (2000) Acute normovolemic hemodilution (ANH). Effects of ANH on the diastolic function of the left ventricle. *Anaesthesist* 49:939–948
  9. Hanke AA, Dellweg C, Kienbaum P et al (2010) Effects of desmopressin on platelet function under conditions of hypothermia and acidosis: an in vitro study using multiple electrode aggregometry\*. *Anaesthesia* 65:688–691
  10. Hanke AA, Roberg K, Monaca E et al (2010) Impact of platelet count on results obtained from multiple electrode platelet aggregometry (Multiplate). *Eur J Med Res* 15:214–219
  11. Hughes JD, Macdonald VW, Hess JR (2007) Warm storage of whole blood for 72 hours. *Transfusion* 47:2050–2056
  12. Laks H, O'Connor NE, Pilon RN et al (1973) Acute normovolemic hemodilution: effects on hemodynamics, oxygen transport, and lung water in anesthetized man. *Surg Forum* 24:201–202
  13. Musallam KM, Tamim HM, Richards T et al (2011) Preoperative anaemia and postoperative outcomes in non-cardiac surgery: a retrospective cohort study. *Lancet* 378:1396–1407
  14. Popovsky MA, Whitaker B, Arnold NL (1995) Severe outcomes of allogeneic and autologous blood donation: frequency and characterization. *Transfusion* 35:734–737
  15. Segal JB, Blasco-Colmenares E, Norris EJ et al (2004) Preoperative acute normovolemic hemodilution: a meta-analysis. *Transfusion* 44:632–644
  16. Singbartl G, Held AL, Singbartl K (2013) Ranking the effectiveness of autologous blood conservation measures through validated modeling of independent clinical data. *Transfusion* 53:3060–3079
  17. Toth O, Calatzis A, Penz S et al (2006) Multiple electrode aggregometry: a new device to measure platelet aggregation in whole blood. *Thromb Haemost* 96:781–788
  18. Van Der Meer PF, Gulliksson H, Aubuchon JP et al (2005) Interruption of agitation of platelet concentrates: effects on in vitro parameters. *Vox Sang* 88:227–234
  19. Velik-Salchner C, Maier S, Innerhofer P et al (2009) An assessment of cardiopulmonary bypass-induced changes in platelet function using whole blood and classical light transmission aggregometry: the results of a pilot study. *Anesth Analg* 108:1747–1754
  20. Vincent JL, Baron JF, Reinhart K et al (2002) Anemia and blood transfusion in critically ill patients. *JAMA* 288:1499–1507
  21. Weber CF, Zacharowski K, Brun K et al (2013) Basic algorithm for point-of-care based hemotherapy: perioperative treatment of coagulopathic patients. *Anaesthesist* 62:464–472
  22. Williamson LM, Lowe S, Love EM et al (1999) Serious hazards of transfusion (SHOT) initiative: analysis of the first two annual reports. *BMJ* 319:16–19
  23. Wurtz M, Hvas AM, Kristensen SD et al (2012) Platelet aggregation is dependent on platelet count in patients with coronary artery disease. *Thromb Res* 129:56–61