

Bundeswehrkrankenhaus Ulm
Klinik für Unfallchirurgie und Orthopädie
Ärztlicher Direktor: OTA Prof. Dr. med. Benedikt Friemert

Evaluation der Blutgerinnung verschiedener Großtiermodelle und Vergleich
des prokoagulatorischen Effektes der Hämostyptika QuikClot[®] Gauze[™],
Celox[™] Gauze, QuikClot ACS+[™] und H&H PriMed Compressed Gauze mit
der Rotationsthromboelastometrie

Dissertation

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

vorgelegt von
Maximilian Müller
aus Karl-Marx-Stadt, jetzt Chemnitz

Ulm 2014

Amtierender Dekan: Prof. Dr. Thomas Wirth
1. Berichterstatter: Prof. Dr. Benedikt Friemert
2. Berichterstatter: Prof. Dr. Roland Schmidt
Tag der Promotion: 30.10.2015

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	III
1. Einleitung	1
2. Material und Methoden	5
2.1. Material	5
2.1.1. Probanden und Probengewinnung	5
2.1.2. Tierarten und Probengewinnung	6
2.1.3. Verwendete Hämostyptika.....	8
2.2. Methodik	9
2.2.1. Rotationsthromboelastometrie (ROTEM®).....	9
2.2.1.1. Messparameter	12
2.2.1.2. Verwendete Reagenzien	14
2.2.1.3. Verwendete Tests.....	15
2.2.2. Durchführung der Messungen mit humanem Blut und Tierblut ohne Hämostyptika.....	16
2.2.3. Inkubation der humanen Blutproben mit Hämostyptika	17
2.2.4. Datenverarbeitung und statistische Analyse.....	19
3. Ergebnisse	21
3.1. Vergleich der Blutgerinnung Mensch versus Tierspezies	21
3.1.1. NATEM Messung	22
3.1.2. EXTEM Messung	27
3.1.3. INTEM Messung.....	32

3.1.4. Zusammenfassung Unterschiede zwischen Tierspezies und dem Menschen.....	37
3.2. Vergleich Hämostyptika im humanen Blut.....	40
3.2.1. NATEM Messung	40
3.2.2. EXTEM Messung	45
3.2.3. INTEM Messung.....	50
3.2.4. FIBTEM Messung.....	55
3.2.5. Zusammenfassung der Unterschiede durch Hämostyptikazusatz.....	58
4. Diskussion	61
4.1. Vergleich humane Blutgerinnung versus Tierspezies	61
4.2. Vergleich Hämostyptika mittels Probandenblutproben	71
4.3. Methodik und Limitationen.....	78
4.4. Schlussfolgerung und Ausblick.....	83
5. Zusammenfassung.....	85
6. Literaturverzeichnis	87
7. Anhang	101
8. Danksagung.....	102
9. Lebenslauf.....	103

Abkürzungsverzeichnis:

Abb.	Abbildung
ACS	Advanced Clotting Sponge
AG	Aktiengesellschaft
ANOVA	analysis of variance
aPTT	Partielle Thromboplastinzeit
°C	Grad Celsius
CelG	Celox™ Gauze
cm	Zentimeter
Co.	Compagnie
Co. KG	Compagnie Kommanditgesellschaft
CFT	Clot Formation Time
CT	Clotting Time
et al.	et alii, Lateinisch: und andere
EXTEM	extrinsisch aktivierte Thrombelastometrie
FIBTEM	Fibrin abhängige Thrombelastometrie
g	Gramm
G	Gauge
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
h	Stunde
H&HG	H&H PriMed Compressed Gauze
Inc.	Incorporated

INTEM	intrinsisch aktivierte Thrombelastometrie
ISAF	International Security Assistance Force
kg	Kilogramm
l	Liter
LI	Lyse Index
LTD	Limited
m	Meter
MCF	Maximum Clot Firmness
mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mol	Mol
NATEM	nicht aktivierte Thrombelastometrie
NC	nitro camptothecin
N.V.	naamloze vennootschap, Niederländisch: Namenlose Partnerschaft
OEF	Operation Enduring Freedom
OIF	Operationen Iraqi Freedom
p	statistischer p-Wert
PT	Prothrombinzeit
QC ACS+	QuikClot Advanced Clotting Sponge+™
QCG	QuikClot® Gauze™

Quick Wert	Thromboplastinzeit
r	rekombinant
ROTEM®	Rotationsthromboelastometrie
s	Sekunde
S.	Seite
Tab.	Tabelle
TCCC	Tactical Combat Casualty Care
TEG	Thrombelastographie
UK	United Kingdom
US	United States
USA	United States of America

Sonderzeichen

®	eingetragenes Warenzeichen
*	signifikant ($p < 0,05$)
°	Grad
α	alpha
<	kleiner als
&	und
™	unregistrierte Handelsmarke
μl	Mikroliter
%	Prozent

1. Einleitung

Eine wesentliche Komplikation von Traumapatienten stellt der Blutverlust dar.^{28, 76} Bei zivilen polytraumatisierten Patienten in der industrialisierten Welt ist das Verbluten mit 40 % die zweithäufigste Todesursache, innerhalb der ersten Stunde nach Zuführung in die klinische Versorgung sogar die häufigste Todesursache.^{3, 86} Insgesamt versterben 39 % der vermeidbaren zivilen Traumaopfer an einer Blutung.⁹⁸ Auch in militärischen Kampfhandlungen ist das Verbluten die führende Ursache in der Gruppe der vermeidbaren Todesfälle.^{16, 27, 47} So verstarben im Vietnamkrieg und im Gaza Konflikt über die Hälfte aller vermeidbaren Todesopfer an einer Extremitätenblutung.¹⁶ In einem Kollektiv US-amerikanischer Soldaten, die in den Operationen Iraqi Freedom (OIF) und Enduring Freedom (OEF) verstarben, konnte bei über 80 % mit potentiell zu überlebenden Traumata eine letale Blutung nachgewiesen werden.⁴⁷ Insgesamt ist davon auszugehen, dass 20 % bis 25 % aller Opfer moderner Kriege, die auf dem Gefechtsfeld versterben, vermieden werden könnten.⁴⁷

Es gibt jedoch Unterschiede zwischen polytraumatisierten zivilen Patienten und Soldaten in Kampfeinsätzen.^{14, 16} Im zivilen Bereich überwiegt das stumpfe Trauma, dagegen sind 90 % aller Einsatzverletzungen bei Soldaten durch penetrierende Traumata begründet.¹⁶ Verletzungen im militärischen Bereich sind zudem durch hohe Energie und Letalität gekennzeichnet.^{32, 40} Alle medizinischen Maßnahmen zur Verwundetenversorgung sind zudem stets von der aktuellen taktischen Situation abhängig, die beispielsweise eine Fortführung von Kampfhandlungen gewährleisten muss.¹⁶ Unterscheidend zum zivilen Bereich sind zusätzlich die begrenzteren Möglichkeiten und Materialien der Erstversorgung, sowie der möglicherweise länger dauernde Zeitraum bis zur definitiven klinischen Versorgung.¹⁶ So verstarben 90 % der im Irak und Afghanistan getöteten US-amerikanischen Soldaten, bevor sie eine medizinische Versorgungseinrichtung erreicht haben.¹⁶ Eine frühe, einfach durchzuführende und erfolgreiche Blutungskontrolle ist somit die effektivste Strategie die Opferzahlen nachhaltig zu senken.⁷ Blutungen in Körperhöhlen sind präklinisch meist nicht zu therapieren.

Zwar konnte der Anteil an Thorax-, Abdominal- und Kopfverletzungen durch Körperschutzwesten und Schutzhelme in den letzten Jahren verringert werden, ein Großteil der Soldaten erliegt jedoch nach wie vor stark blutenden Extremitätenverletzungen.^{27, 47, 75} Diese können oft durch die Applikation eines Tourniquets beherrscht werden. Bei Wunden, die in Körperregionen liegen, die nicht für ein Tourniquet zugänglich sind, ist das Wundpacking oft die einzige Möglichkeit eine Blutung präklinisch zu kontrollieren.⁴⁷ So waren bei ca. 20 % aller Verstorbenen mit potentiell überlebenden Verletzungen der Operation Iraqi Freedom (OIF) und der Operation Enduring Freedom (OEF) eine Blutung in anatomischen Übergangsregionen (z.B. Leiste, Achsel oder Kopf-Hals-Region) zu finden.^{47, 54}

In den letzten 15 Jahren gab es viele Neuentwicklungen von topischen Hämostyptika, die die lokale Blutungskontrolle durch Wundpacking unterstützen.^{2, 33, 34} Um das Wirkpotential von Hämostyptika zu evaluieren wurden in den letzten Jahren zahlreiche Tiermodelle zum Vergleich dieser Substanzen entwickelt.⁵³ Bei all diesen Versuchen handelt es sich um Blutungsmodelle bei denen verschiedene hämostyptische Verbandstoffe in stark blutende Wunden eingebracht wurden. Hierbei kamen jedoch unterschiedliche Tierarten zum Einsatz.⁵³ Die meisten Versuche wurden an Schweinen durchgeführt, weiterhin kamen Kaninchen und Ziegen zum Einsatz.^{1, 4-6, 19, 20, 38, 39, 49, 50, 56, 78, 92, 105} Die Modelle der verschiedenen Arbeitsgruppen unterschieden sich jedoch hinsichtlich der erzeugten Blutung (hochvoluminösen Niedrigdruck-Blutungen, arterielle Hochdruck-Blutungen, gemischt arteriell venöse Blutungen), sowie Lokalisation, Größe und Methode der Gefäßverletzung, der Dauer bis zum Anlegen eines Verbandes und kreislaufsupportiven Maßnahmen deutlich.^{23, 24, 53, 54, 79} Diese Unterschiede machen eine Metaanalyse und damit die Beurteilbarkeit der Daten sehr schwierig, da Produkte in verschiedenen Modellen unterschiedlich gut wirkten.^{34, 53, 79}

Außerdem ist das alleinige Zugrundelegen von einzelnen Tierversuchen zur Wirkevaluation teilweise nicht ausreichend. Beispielhaft dafür wurden im Oktober 2008 die bisherigen Hämostyptika der US-amerikanischen Streitkräfte QuikClot® (Z-Medica®, Wallingford, Connecticut, USA) und HemCon® (HemCon Medical Technologies, Inc., Portland, Oregon, USA) durch Woundstat® (TraumaCure, Inc.,

Bethesda, Maryland, USA) und QuikClot® Combat Gauze™ (Z-Medica, Wallingford, Connecticut, USA) ersetzt. Im Dezember 2008 wurden jedoch schwerwiegende Nebenwirkungen von Woundstat® in Form von okklusiver Thrombose bekannt, sodass dieses Produkt bereits im Februar 2009, nur 7 Monate nach Aufnahme, wieder aus den Tactical Combat Casualty Care (TCCC) Guidelines herausgenommen wurde und mittlerweile nicht mehr erhältlich ist. Die entsprechende Studie, die das Sicherheitsrisiko von Woundstat® aufgedeckt hatte und zur Entfernung des Produktes führte, wurde jedoch erst im Februar 2010 veröffentlicht.⁵² Ein alleiniges Heranziehen von Studien verbündeter Streitkräfte bezüglich Ausstattungsentscheidungen der eigenen Soldaten birgt somit das Risiko sich auf nicht aktuellen Erkenntnissen abzustützen.

Zur Analyse von Hämostyptika, hinsichtlich der Wirksamkeit am Menschen, gibt es bisher keine randomisierten kontrollierten Studien.³³ Es existieren einige dokumentierte Anwendungsbeobachtungen und Fallberichte von QuikClot®, Hemcon® und Celox® (MEDTRADE PRODUCTS LTD., Crew, UK) seitens des US-Militärs und des Italian Army Medical Service während des Irak und Afghanistan Einsatzes (OIF; OEF).^{77, 83, 109} Die Rate erfolgreicher Hämostyptikaanwendungen betrug zwischen 72-97 %.^{18, 77, 81, 83, 109} Ein aussagekräftiger Vergleich dieser Fallberichte ist aufgrund von nicht standardisierten Verletzungsmustern und Anwendungen nicht möglich. Weiterhin kann man keine Aussage treffen, ob die hier eingesetzten Hämostyptika wirksamer waren, als das bisher bei Blutungen angewandte Wundpacking mit normalen Gazen.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass trotz zahlreicher Produkte, ausgiebiger Testung im Tierversuch und dokumentierten Anwendungen bei Soldaten, keine konkrete produktbezogene Anwendungsempfehlung gegeben werden kann. So setzen verschiedene Armeen Hämostyptika mit unterschiedlichen Wirkmechanismen ein. Die Streitkräfte der Nationen USA, Frankreich und Italiens sind beispielsweise mit QuikClot® Combat Gauze™ ausgestattet. Celox™ Gauze wird unter anderem von den Armeen Großbritanniens, Spaniens und Tschechiens verwendet. Die deutschen Streitkräfte verwendeten lange nachdem andere Armeen bereits auf modernere Produkte gewechselt hatten weiterhin QuikClot

ACS+™ (Z-Medica®, Wallingford, Connecticut, USA).

Zusätzlich zu der Problematik der Vielschichtigkeit der Tiermodelle und der daraus resultierenden Uneinigkeit bei der Empfehlung eines Produktes kommt hinzu, dass nur unzureichend geklärt ist, inwieweit Großtiermodelle von ihrem Gerinnungsmechanismus mit dem Menschen zu vergleichen sind und welche Tierspezies deshalb aus hämostaseologischer Sicht am besten zur Evaluation von Hämostyptika geeignet ist.^{41, 65} Ein Hämostyptikum könnte bei Tieren beispielsweise durch eine unterschiedliche Konzentration von Gerinnungsfaktoren eine andere Wirkung als beim Menschen aufweisen.

Eine Möglichkeit, mit geringem Aufwand *in-vitro* die Qualität der Blutgerinnung zu bestimmen, sind viskoelastische Gerinnungsmessungen wie die Rotationsthromboelastometrie (ROTEM®) oder die Thrombelastographie (TEG), die funktionelle Parameter der Gerinnung wie Thrombusstärke im zeitlichen Verlauf und Fibrinolyse erfassen. Diese Verfahren werden mittlerweile zur schnellen Diagnostik von Gerinnungsstörungen in der klinischen Notfall- und Intensivmedizin routinemäßig eingesetzt.⁶⁰ Auch die Gerinnung verschiedener Tierspezies wurde bereits mit der ROTEM® untersucht.^{48, 73, 89, 91, 95, 104} In dieser Studie wurde die Gerinnung der Spezies Hund, Schwein, Kaninchen und Schaf mit der ROTEM® laborchemisch analysiert und mit menschlichem Blut verglichen, um beantworten zu können welche Tierspezies bezüglich ihrer hämostaseologischen Eigenschaften dem Menschen am ähnlichsten ist und sich deshalb am besten zur weiteren vergleichenden Testung von Hämostyptika am Tiermodell eignet.

Im zweiten Teil dieser Untersuchung wurde eine vergleichende Analyse der Hämostyptika QuikClot® Gauze™ (QCG), Celox™ Gauze (CeIG), QuikClot ACS+™ (QC ACS+) und H&H PriMed Compressed Gauze (H&H Associates, Ordinary, Virginia, USA) (H&HG) mit menschlichem Blut *in-vitro* mit der ROTEM® durchgeführt. Ziel dieses Versuchsteils war es zu beantworten, welches der von uns mittels ROTEM® analysierten Hämostyptika das größte hämostyptische Potential aufweist und inwieweit sich die Ergebnisse tierexperimenteller Studien auf den Menschen übertragen lassen.

2. Material und Methoden

2.1. Material

2.1.1. Probanden und Probengewinnung

Für die Gewinnung der menschlichen Blutproben lag ein positives Votum der Ethikkommission der Universität Ulm vor (Antragsnummer: 231/11). Die in dieser Studie untersuchten Hämostyptika werden hauptsächlich im militärischen Bereich eingesetzt, sodass ein Probandenkollektiv ähnlich dem verwundeter Soldaten gewählt wurde. Alle acht Probanden erfüllten folgende Einschlusskriterien: Alter zwischen 25 und 35 Jahren, männliches Geschlecht, keine bekannten Blutgerinnungsstörungen (Fragebogen siehe Anhang), einwilligungs- und aufklärungsfähig. Die Probanden waren gemäß den Auflagen der Ethikkommission aufgeklärt und hatten ihr Einverständnis schriftlich gegeben. Ausschlusskriterien für diese Studie waren: Alter jünger als 25 oder älter als 35 Jahre, weibliches Geschlecht, Erkrankungen des Gerinnungssystems [eine oder mehrere mit ja beantwortete Fragen des Fragebogens zur Bestimmung von Gerinnungsstörungen (siehe Anhang)], Medikamenteneinnahme in den letzten zehn Tagen vor Blutentnahme, Dauermedikation, fehlende Aufklärungsfähigkeit oder eine fehlende Einwilligungserklärung.

Für die Analysen mit der ROTEM[®] verwendeten wir venöses Blut. Das Blut wurde aus einer oberflächlichen Vene im Bereich der Ellenbeuge unter aseptischen Bedingungen mit einer Butterfly-Kanüle (0,8 x 19 mm Safety-Multifly[®]-Set, SARSTEDT AG & Co., Nümbrecht, Germany) entnommen. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Stauung nicht länger als eine Minute dauerte und nicht zu fest angelegt war. Die Blutproben wurden in vollständig gefüllten Citratblutröhrchen (S-Monovette[®] 3 ml 9NC, SARSTEDT AG & Co., Nümbrecht, Germany) gesammelt und nach Entnahme vorsichtig achtmal hin- und hergeschwenkt. Für die Vergleichsuntersuchung zwischen Mensch und Tier wurden 4 Röhrchen à 3 ml Blut abgenommen. Innerhalb von 4 Wochen wurde bei den gleichen Probanden eine weitere Blutentnahme für die Vergleichsmessungen der Hämostyptika

durchgeführt. Es wurden hierfür 5 Röhrchen à 3 ml Blut abgenommen. Die Blutproben (Blutproben der Probanden und Tierblutproben) wurden mit einem Analysegerät des Typs ROTEM[®] *delta* (Team International GmbH, München Germany) des Bundeswehrkrankenhauses Ulm, Abteilung Anästhesie, stets von der gleichen Person untersucht. Das Probenmaterial wurde innerhalb von 4 Stunden nach der Blutabnahme analysiert. Die Lagerung bis zum Beginn der Messung erfolgte bei einer Raumtemperatur von 24 °C. 15 Minuten vor Durchführung der jeweiligen Messungen wurde das Citratblutröhrchen in der geräteeigenen Aufwärmestation für Blutentnahmeröhrchen des ROTEM[®] *delta* auf 37 °C erwärmt.

2.1.2. Tierarten und Probengewinnung

Die Untersuchungen des Tierblutes wurden durch das Regierungspräsidium Tübingen genehmigt (Projektnummer: III.23, Jahr 2010). Bei den Tiergruppen wurde auf Zuchttiere und Tiere aus anderen Tierversuchen vor dem eigentlichen Versuchsbeginn zurückgegriffen. Es wurden maximal 10 % des Blutvolumens abgenommen um kardiovaskuläre Auswirkungen der Blutentnahme zu vermeiden. Bei der Abnahme wurde darauf geachtet die Stauung möglichst kurz zu halten. Die Röhrchen wurden bis zur vorgegeben Füllmarkierung gefüllt, um das richtige Mischungsverhältnis zwischen Citrat und Blut zu erhalten und unmittelbar nach der Abnahme achtmal hin- und hergeschwenkt.

Probengewinnung beim Schwein

8 Schweinen der Deutschen Landrasse wurden 4 Röhrchen à 3 ml (S-Monovette[®] 3 ml 9NC, SARSTEDT AG & Co., Nümbrecht, Germany) aus einem femoralen zentralvenösen Zugang (Cavafix[®] Duo, 18G, 70 cm, B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Germany), direkt nach abgeschlossener Punktion über einen Adapter (Multi-Adapter für Sarstedt S-Monovetten, SARSTEDT AG & Co., Nümbrecht,

Germany) entnommen. Die Blutabnahme fand vor dem eigentlichen Versuchsbeginn statt und die Tiere befanden sich zum Zeitpunkt der Blutentnahme in Intubationsnarkose. Es handelte sich um Tiere der Arbeitsgruppe um Prof. Dr. Radermacher der Universität Ulm. Hierzu liegt dem Regierungspräsidium Tübingen ein genehmigter Tierversuchsantrag vor (Einfluss des Biguanid-Derivats EMD008 zur Prophylaxe von Ischämie/Reperfusionsschäden der Niere nach thorakaler Aorten-Okklusion, Tierversuchsantrag Nummer 1023).

Probengewinnung beim Schaf

8 Merinoschafen wurden jeweils 4 Citratblutröhrchen à 3 ml (S-Monovette® 3 ml 9NC, SARSTEDT AG & Co., Nümbrecht, Germany) unter leichter Aspiration entnommen. Mit einer peripheren Venenverweilkanüle (1,3 x 45 mm Vasofix® Safety, B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Germany) wurde die mit einer Hand gestaute Vena jugularis externa punktiert. Ein Tierpfleger fixierte die Schafe in Sitzhaltung. Es handelte sich um Tiere des Zuchtbetriebs Gebel, Ulm, Deutschland.

Probengewinnung beim Kaninchen

9 Weiße Neuseeländer Kaninchen wurden jeweils 4 Citratblutröhrchen à 3 ml (S-Monovette® 3 ml 9NC, SARSTEDT AG & Co., Nümbrecht, Germany) aus der Ohrvene mit einer Nadel (SurGuard2 0,9 x 38 mm, TERUMO Europe N.V., Leuven, Belgium) unter leichter Aspiration entnommen. Während der Blutentnahme wurden die Tiere durch einen Tierpfleger fixiert. Es handelte sich um Zuchttiere des Biological Laboratory Service, Boehringer-Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG.

Probengewinnung beim Hund

9 Beagle Hunden wurden jeweils 4 Citratblutröhrchen à 3 ml (S-Monovette® 3 ml 9NC, SARSTEDT AG & Co., Nümbrecht, Germany) unter leichter Aspiration entnommen. Die Blutentnahme erfolgte durch Punktion der Vena jugularis externa mittels einer Butterfly-Kanüle (0,8 x 19 mm Safety-Multifly®-Set, SARSTEDT AG & Co., Nümbrecht, Germany). Während der Blutentnahme wurden die Hunde durch einen Tierpfleger fixiert. Es handelte sich um Zuchttiere des Biological Laboratory Service, Boehringer-Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG.

2.1.3. Verwendete Hämostyptika

QuikClot ACS+™ (Z-Medica®, Wallingford, Connecticut, USA) ist ein in einem Netzbeutel verpacktes, kugelförmiges (ca. 2 mm Durchmesser), chemisch verändertes Mineral (Zeolith). Die gerinnungsfördernde Wirkung beruht durch Absorption von Wasser in einer exothermen Reaktion, wodurch es zu einer lokalen Konzentrationserhöhung gerinnungsrelevanter Blutbestandteile kommt.³⁴ Für den Versuch wurden die Kugeln zermörsert und 1,5 mg des so gewonnenen Pulvers verwendet. Es war zum Studienzeitpunkt das Standardprodukt der deutschen Streitkräfte.

QuikClot® Gauze™ (Z-Medica®, Wallingford, Connecticut, USA) ist ein Z-gefalteter, röntgenerkennbarer hämostatischer Verband (7,5 cm x 3,7 m). Die Gaze ist mit Kaolin, einem Aktivator der intrinsischen Gerinnungskaskade versetzt.³⁴ Für den Versuch wurde das Verbandmaterial mit einer Nagelschere fein zerkleinert und 1,5 mg verwendet. Es war zum Studienzeitpunkt das Standardprodukt der US-amerikanischen Streitkräfte.

Celox™ Gauze (MEDTRADE PRODUCTS LTD., Crew, UK) ist eine mit Chitosangranula beschichtete Gauze (7,6 cm x 3 m). Chitosan ist ein natürlich vorkommendes Biopolymer, welches sich vom Chitin ableitet. Das kationisch geladene Chitosan bindet an negativ geladene Oberflächen wie Erythrozyten oder

Thrombozyten und führt zu einem mukoadhäsiven Wundverschluss.³⁴ Für den Versuch wurde das Verbandmaterial mit einer Nagelschere fein zerkleinert. Insgesamt wurden 1,5 mg Verbandmaterial verwendet. Es wurde darauf geachtet, dass die teils locker am Verband befindlichen Granula nicht abfielen und mit in das Cup gegeben wurden. Es war zum Studienzeitpunkt das Standardprodukt der britischen und einiger osteuropäischer Streitkräfte.

H&H PriMed Compressed Gauze (H&H Associates, Ordinary, Virginia, USA) ist eine Baumwollgaze mit einer Länge von 11,4 cm x 3,8 m. Hämostyptische Zusätze sind in diesem Produkt nicht enthalten. Für den Versuch wurden 1,5 mg Baumwollfasern mit einer Nagelschere entnommen.

2.2. Methodik

2.2.1. Rotationsthromboelastometrie (ROTEM[®])

Geschichtlicher Hintergrund

Bereits 1948 wurde von Prof. Dr. Hartert in Heidelberg erstmals das Prinzip der viskoelastischen Gerinnungsmessung mit der Thrombelastographie (TEG) beschrieben.³⁷ Aufgrund einer vergleichsweise aufwändigen Handhabung und extremer Empfindlichkeit gegenüber Erschütterungen konnte sich diese Methode im klinischen Alltag nicht etablieren, fand jedoch in den USA vereinzelt Bedeutung.^{17, 60, 88, 94} Anfang der neunziger Jahre wurde die Methode in München zur Rotationsthromboelastographie weiterentwickelt.^{12, 13} Aus namensrechtlichen Gründen erfolgte später eine Umbenennung in Rotationsthromboelastometrie (ROTEM[®], Tem Innovations GmbH, München).⁶⁰ Im Gegensatz zur klassischen TEG wird bei der ROTEM[®] nicht das Cup, sondern der Pin bewegt, der durch ein Präzisionskugellager stabilisiert wird. Hierdurch ist die ROTEM[®] unanfälliger gegenüber Erschütterungen.^{42, 60}

Systembeschreibung und Zubehör

Das ROTEM[®] *delta* ist ein integriertes Komplettsystem, bestehend aus dem ROTEM[®] *delta* Gerät und der zugehörigen System-Software, welche die Messsignale detektiert (siehe Abb. 1).



Abb. 1: ROTEM[®] *delta*-Komplettsystem in der zentralen interdisziplinären Notaufnahme des Bundeswehrkrankenhauses Ulm

Über den Touchscreen und die intuitiv zu bedienende Software erfolgen Dateneingaben, sowie das Speichern und Abrufen von Befunden. Zusätzlich gibt es eine elektronische System-Pipette mit welcher die Proben und Reagenzien halbautomatisch und softwaregesteuert pipettiert werden können. Der Arbeitsbereich dient als Temperierstation für Küvettenhalter und enthält zusätzlich

eine Probenvorwärmstation für die Citratblutröhrchen. Um physiologische Testergebnisse sicherzustellen, beträgt die Temperatur im Arbeitsbereich gleichmäßig $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$. Das ROTEM[®] *delta* verfügt über vier voneinander unabhängige Messkanäle, dadurch können zeitgleich vier verschiedene Messungen durchgeführt werden. Die Messstationen werden ebenso auf $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ temperiert, sodass die Wärme an die Blutproben während des Messvorgangs weitergegeben wird. Vor jeder Messung benötigt man einen zylindrischen Einmal-Plastikstempel (Pin) mit 6 mm Durchmesser, der auf die Achse des entsprechenden Kanals geschoben wird und eine 8 mm breite Einmalküvette (Cup), welche in der Halterung befestigt wird. Die einzelnen Schritte der Testdurchführung werden auf dem Bildschirmdisplay angezeigt und mittels der elektronischen Pipettiereinrichtung werden die benötigten ROTEM[®]-Reagenzien und Proben in die Küvette gegeben. Dies gewährleistet einen immer gleichen Testablauf und der Test kann nach einer kurzen Einweisung selbstständig durchgeführt werden. Eine spezielle Laborausbildung ist nicht erforderlich. Nachdem der letzte Pipettierschritt abgeschlossen ist, wird der Küvettenhalter mit der im Cup befindlichen Blutprobe über Führungsschienen mit dem Pin in Verbindung gebracht. Sogleich beginnt die Computersoftware automatisch mit der fortlaufenden Messaufzeichnung.

Messprinzip

Während der Messung rotiert der Pin alternierend im und gegen den Uhrzeigersinn um jeweils $4,75^\circ$. Durch Reflektion des Lichtstrahls einer Dioden-Lichtquelle an einer Spiegelplatte am oberen Ende der Achse wird die Rotation optisch einer lichtempfindlichen Detektionseinheit übermittelt (siehe Abb. 2). Bei fehlender Gerinnung bleibt die Bewegung des Pins unbeeinflusst. Das System stellt dies graphisch als gerade Linie in der Reaktionskurve dar. Sobald sich an Cup und Pin durch Kontaktaktivierung an diesen Fremdkörperflächen oder durch Zugabe von Aktivatorreagenzien ein Gerinnsel bildet, resultiert dies in einer Bewegungsänderung des Stempels (Pin). Je stärker die Hemmung der

Stempelrotation aufgrund der zunehmenden Gerinnselfestigkeit ist, desto größer wird die Amplitude in der graphisch aufgetragenen Reaktionskurve. Auf dem Monitor wird der Gerinnungsablauf (Gerinnselfestigkeit) als Graphik gegen die Zeit dargestellt. Die Kurve ist aus historischen Gründen seit Hartert doppelseitig.³⁷ Die Messergebnisse der einzelnen Messparameter werden in Zahlen auf dem Display angezeigt. Dieses *in-vitro* Verfahren ermöglicht die Beurteilung der Hämostase als ganzheitlichen dynamischen Prozess, da im Gegensatz zu den klassischen Gerinnungstesten (aPTT, Quick Wert) neben den Gerinnungszeiten auch die Gerinnselfestigkeit und deren Lyseverhalten erfasst werden.

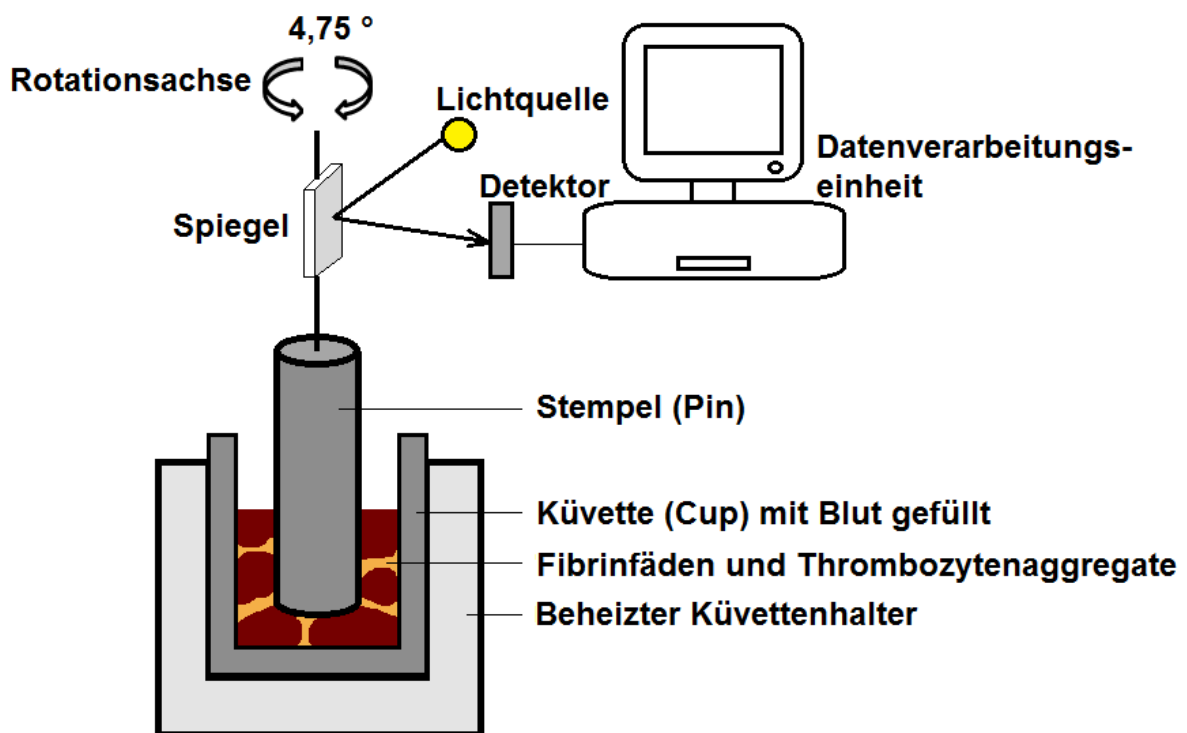


Abb. 2: Schematische Darstellung des Messprinzips der Rotationsthromboelastometrie

2.2.1.1. Messparameter

Gerinnungszeit (Clotting Time, CT, [s]): Ist die Zeitspanne vom Messbeginn (letzte Reagenzienzugabe) bis zum Beginn der Gerinnselformung. Technisch wird die Zeit bis zum Auftreten einer 2 mm Amplitude gemessen.

Gerinnelbildungszeit (Clot Formation Time, CFT, [s]): Ist die Zeit vom Gerinnungsbeginn bis zu einer Gerinnselfestigkeit von 20 mm. Die CFT gibt die initiale Gerinnungsgeschwindigkeit an.

Alpha Winkel (α , [°]): Ist der Winkel zwischen der Mittellinie und der Tangente an die Gerinnungskurve durch den 20 mm-Amplitudenpunkt. Er gibt die Steilheit des Kurvenanstiegs an und dient als Maß für die initiale Gerinnungsgeschwindigkeit.

Maximale Gerinnselfestigkeit (Maximum Clot Firmness, MCF, [mm]): Beschreibt die maximale mechanische Ausprägung (Amplitude) des Gerinnselfestigkeit an, die während der Messung erreicht wird.

Lyse Index (LI, [%]): Ist der prozentuale Anteil der Gerinnselfestigkeit bezogen auf die MCF und gibt das Ausmaß der Lyse zu einem bestimmten Zeitpunkt an. In unserer Studie wurde der LI 45 analysiert, d.h. Ausmaß der Lyse 45 min nach der CT.

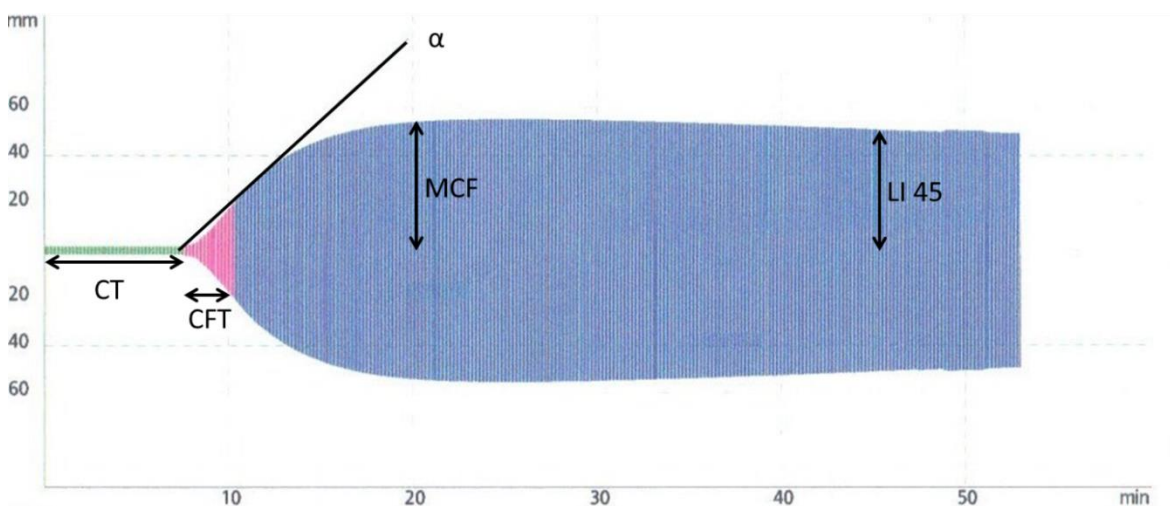


Abb. 3: Darstellung der einzelnen Messparameter der ROTEM[®] Analyse. CT: Clotting Time in Sekunden. CFT: Clot Formation Time in Sekunden. MCF: Maximum Clot Firmness in mm. LI 45: Lyse Index in Prozent. α : Alpha Winkel in Grad.

2.2.1.2. Verwendete Reagenzien

Das star-tem[®] Reagenz ist ein gebrauchsfertiges, flüssiges ROTEM[®]-Systemreagenz und enthält 0,2 mol/l CaCl₂ in HEPES Puffersubstanz pH 7,4 und 0,1 % Natriumazid. Es dient als Rekalzifikator des Citratblutes. Der Aktivator der Gerinnung ist die Oberfläche der Küvette und des Stempels durch Kontaktaktivierung. Wird dieses Reagenz allein verwendet, erhält man eine „nicht aktivierte Thrombelastometrie“ (NATEM Messung), die klassische TEM. Das star-tem[®] dient darüber hinaus zur Rekalzifizierung des Citratblutes bei den INTEM und EXTEM Messungen. Es wurde die Referenznummer 503-10 verwendet.

Das flüssige, gebrauchsfertige r ex-tem[®] Reagenz enthält rekombinantes, humanes Gewebethromboplasmin, Phospholipide, Heparin-Inhibitor, Konservierungsmittel und Puffersubstanz. Es fungiert als extrinsischer Aktivator des Gerinnungssystems. Zur Rekalzifizierung muss star-tem[®] bei Citratblut verwendet werden. Man erhält eine „extrinsisch aktivierte Thrombelastometrie“ (EXTEM Messung). Verwendet wurde die Referenznummer 503-05.

Das in-tem[®] Reagenz ist ein gebrauchsfertiges, flüssiges ROTEM[®]-Systemreagenz. Es enthält partielles Thromboplastin-Phospholipid aus Kaninchenhirn (Chloroform-Extrakt), Ellagsäure, Puffersubstanz und Konservierungsmittel. Es fungiert als intrinsischer Aktivator der Blutgerinnung. Zur Rekalzifizierung bei Citratblut muss star-tem[®] verwendet werden. Man erhält eine „intrinsisch aktivierte Thrombelastometrie“ (INTEM Messung). Verwendet wurde die Referenznummer 503-02.

Das fib-tem[®] Reagenz ist ein gebrauchsfertiges, flüssiges ROTEM[®]-Systemreagenz und enthält Cytochalasin D / DMSO Lösung 0,2 mol/l CaCl₂ in HEPES Puffersubstanz pH 7,4 und Konservierungsmittel. Durch Hinzugabe dieses Reagenz erfolgt eine Thrombozytenblockade, wodurch ein reines Fibringerinnsel gebildet und gemessen wird. Weiterhin dient es der Rekalzifizierung von Citratblut. Die Aktivierung erfolgt durch die zusätzliche Zugabe von r ex-tem[®]. Man erhält

eine „Fibrin abhängige Thrombelastometrie“ (FIBTEM Messung). Der Vergleich von FIBTEM- und EXTEM Test gibt einen Hinweis auf den Beitrag der Thrombozyten zur Gerinnselfestigkeit. Verwendet wurde die Referenznummer 503-06.

ROTROL N Reagenz wurde für die einmal wöchentlich durchgeführte Qualitätskontrolle am ROTEM[®] delta -System verwendet.

2.2.1.3. Verwendete Tests

Durch die Zugabe unterschiedlicher Reagenzien können verschiedene Aspekte des Gerinnungsprozesses differenziert analysiert werden. 15 Minuten vor Beginn der jeweiligen Messung wurden die ROTEM[®]-Reagenzien aus dem Kühlschrank entnommen, sodass diese zu Beginn der Messung Raumtemperatur hatten. Es wurde kontrolliert, dass die ROTEM[®]-Reagenzien nicht länger als 8 Tage nach dem ersten Öffnen angebrochen waren. Unmittelbar vor Messbeginn wurde das im Citratröhrchen befindliche Blut durch viermaliges langsames Hin- und Herschwenken noch einmal durchmischt. Die Laufzeit der einzelnen Messungen betrug zwischen mindestens 45 min und 80 min. Alle Messungen wurden streng nach Herstellerangaben und mit originalem Verbrauchsmaterial durchgeführt. In seltenen Fällen kam es zu Fehlermeldungen durch das ROTEM[®] *delta*-System. Die Messreihen wurden daraufhin abgebrochen und im Anschluss wiederholt.

NATEM Messung

Bei diesem Test wurden 20 µl des star-tem[®] Reagenz und 300 µl Blutprobe in das Cup gegeben und durchmischt. Anschließend erfolgte die korrekte Positionierung des Küvettenhalters am Messkanal.

EXTEM Messung

Mit Hilfe der halbautomatischen Pipette wurden zunächst 20 µl star-tem[®] Reagenz und 20 µl r ex-tem[®] Reagenz in die vortemperierte Küvette gegeben. Anschließend wurden 300 µl der Citratblutprobe in die gleiche Küvette pipettiert. Probe und Reagenz wurden nun durch Aufziehen in die Pipette und anschließendes Entleeren durchmischt. Abschließend wurde der Küvettenhalter mit dem Probensatz an dem entsprechenden Messkanal befestigt.

INTEM Messung

Im ersten Schritt wurden 20 µl star-tem[®] Reagenz und 20 µl in-tem[®] Reagenz in das Cup gegeben. Danach wurden 300 µl der Citratblutprobe zu den beiden Reagenzien hinzugefügt. Anschließend wurden Probe und Reagenz einmal durchmischt und der Küvettenhalter in die Endposition gebracht.

FIBTEM Messung

Zu Beginn dieses Tests wurden 20 µl fib-tem[®] Reagenz in die Küvette gegeben. Zusätzlich wurden 20 µl r ex-tem[®] Reagenz in das Cup hinzugefügt und 300 µl der Citratblutprobe zu den Reagenzien gegeben. Im nachfolgenden Schritt erfolgten die Durchmischung des Küvetteninhaltes und das Anbringen des Cups am Messkanal.

2.2.2. Durchführung der Messungen mit humanem Blut und Tierblut ohne Hämostyptika

Bei den menschlichen Blutproben wurde eine NATEM-, EXTEM-, INTEM- und FIBTEM Messung wie unter 2.2.1.3. beschrieben durchgeführt. Die Blutproben der Tierspezies wurden auf gleiche Weise mittels NATEM-, EXTEM- und INTEM Test

analysiert (siehe 2.2.1.3.). Sowohl die Messungen mit Probandenblut als auch mit Tierblut wurden innerhalb von 4 Stunden nach der Blutentnahme durchgeführt. Die Lagerung der Citratblutröhrchen erfolgte bei einer Raumtemperatur von 24 °C. Für jede Testreihe wurde Blut aus einem eigenen Citratblutröhrchen entnommen.

2.2.3. Inkubation der humanen Blutproben mit Hämostyptika

Das Blut der Probanden wurde in einer zweiten Messung unter Zusatz von Hämostyptika analysiert. In einem Vorversuch wurde zunächst die maximale mögliche Menge des Hämostyptikums ermittelt, welches zugegeben werden kann ohne die Messung zu stören. Es wurden Probemessungen mit einer Gesamtmasse von 10 mg, 5 mg und 2 mg (Waage: Sartorius ED224S, Sartorius AG, Göttingen, Germany) zerkleinerter H&H PriMed Compressed Gauze-Stücke durchgeführt, da H&H PriMed Compressed Gauze das größte Volumen bzw. durch den feinfaserigen Aufbau, am wahrscheinlichsten zu Einschränkungen der Stempelrotation im Cup während der Messung führen könnte. Diese Messungen führten zu Fehlermeldungen der Software des ROTEM[®] *delta* nach Messbeginn wie „Mechanisches Problem“ oder „laufende Messung durch Trocknung beeinflusst“.⁹⁹ Ab einer Menge von 1,5 mg H&H PriMed Compressed Gauze kam es auch nach mehrfachen Messdurchläufen zu keinen Fehlermeldungen, weshalb die Versuche mit dieser Menge durchgeführt wurden.

Die weiteren in unserer Studie eingesetzten Hämostyptika wurden ebenfalls mit 1,5 mg analysiert. Bei diesen Messungen zeigte das ROTEM[®] *delta* ebenfalls keine Fehlermeldungen an, sodass eine Masse von 1,5 mg hämostyptisches Verbandsmaterial für die folgenden Messungen festgelegt wurde. Bei allen vier zu untersuchenden Hämostyptika wurde der NATEM-, EXTEM-, INTEM- und FIBTEM Test durchgeführt. Nach dem Öffnen der hämostyptischen Verbände wurden alle Messungen innerhalb von 14 Tagen vollzogen. Direkt nach der Blutentnahme wurden die vier NATEM Tests durchgeführt, danach folgten die EXTEM-, INTEM Tests und zuletzt die FIBTEM Tests.

Bei allen vier Messreihen (NATEM-, EXTEM-, INTEM-, FIBTEM Messreihe) wurde

das Blut gleichermaßen mit den Hämostyptika inkubiert. Vor Beginn der ROTEM[®] Tests wurde das Hämostyptikum aus der frischen Verpackung entnommen, 1,5 mg abgemessen und in einem unbenutzten verschließbaren Gläschen zwischengelagert. Anschließend wurde das Hämostyptikum am Rand des Küvettenhalters platziert (Abb. 4). Zunächst wurden die unterschiedlichen ROTEM[®] Tests wie oben beschrieben durchgeführt (siehe 2.2.1.3.). Nachdem die Reagenzien und die Blutprobe in das Cup pipettiert wurden, erfolgte im nächsten Schritt deren Durchmischung. Hierzu wurde der Inhalt des Cups in die Pipettenspitze aufgezogen. Anschließend wurde das Hämostyptikum vom Küvettenhalter direkt in das Cup gegeben. Im nachfolgenden Schritt wurde der Inhalt der Pipettenspitze zurück in das Cup entleert, dadurch wurden Probenblut, Testreagenzien und Hämostyptika miteinander in Kontakt gebracht. Zuletzt wurde der Küvettenhalter am zugehörigen Messkanal befestigt. Das Eintauchen des Pins in das Cup trug zum weiteren Durchmischen der im Cup befindlichen Stoffe bei. Dieses standardisierte Vorgehen ermöglichte eine zügige, direkte Inkubation des Probenmaterials mit den Hämostyptika. Die Dauer der Testvorbereitung wurde durch die Inkubation mit den Hämostyptika um ca. eine Sekunde verlängert (Abb. 4).

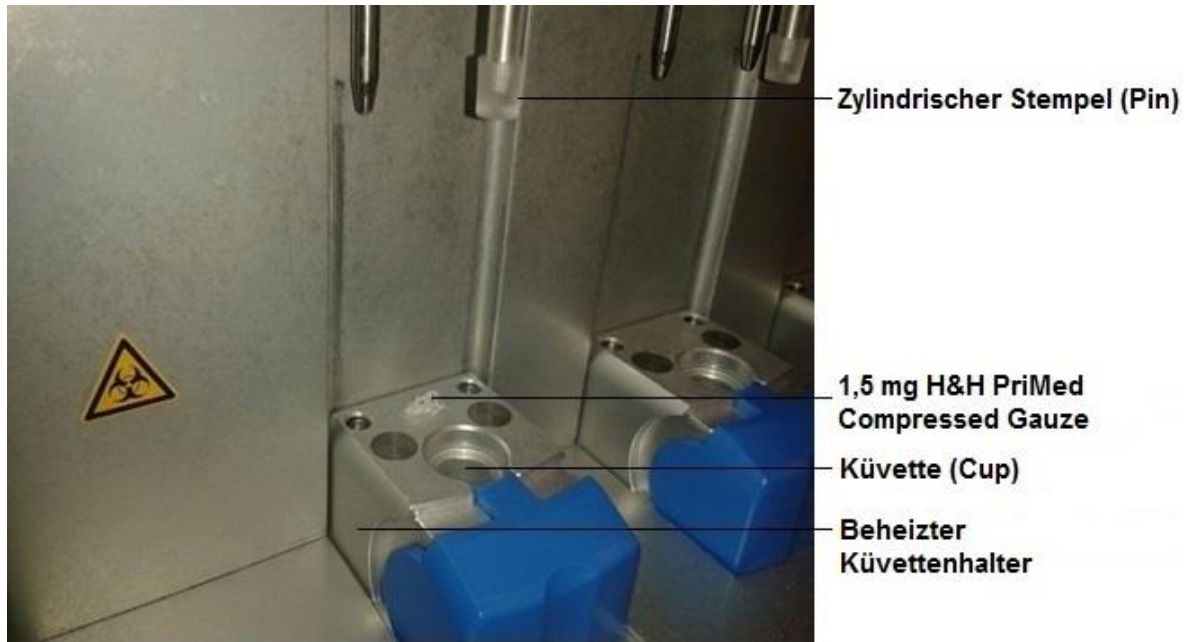


Abb. 4: Hämostyptikainkubation: Die 1,5 mg des jeweiligen Hämostyptikums wurden am Rand der Messvorrichtung zwischengelagert von wo sie nach Vermischung des Blutes mit den Reagenzien in das Cup geschoben wurden.

2.2.4. Datenverarbeitung und statistische Analyse

Für die statistische Auswertung wurde der Beratungsservice des Institutes für Epidemiologie und Medizinische Biometrie der Universität Ulm wahrgenommen.

Mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov-Tests erfolgte die Testung der erfassten Daten auf Normalverteilung. Im Anschluss wurde eine Varianzanalyse der Mittelwerte (ANOVA) mit Bonferroni's Multiple Comparison Test durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurde auf $p \leq 0.05$ festgesetzt. Die Berechnungen wurden mittels GraphPad Prism 5.0 (GraphPad, San Diego, USA) durchgeführt. Die graphische Darstellung der Daten erfolgte in Form von Tabellen und Graphiken, welche mit Microsoft Excel 2010 erstellt wurden.

Eine vergleichende Auswertung der Tierspezies erfolgte anschließend deskriptiv. Analog zu Siller-Matula et al. wurden die Mittelwerte statistisch verglichen und die Tierart mit den wenigsten signifikanten Unterschieden als am ähnlichsten zum

Menschen gewertet.⁸⁹ Zusätzlich erfolgte ein Vergleich bei „nicht aktivierter Thrombelastometrie“ (NATEM) ohne möglichen Einfluss von spezifischen Aktivatoren. Die Unterschiede der Tierspezies zum Menschen wurden anhand der Abweichung der Mittelwerte von den menschlichen Referenzwerten in eine Rangreihenfolge gebracht (ähnlichster Wert 1 Punkt, unterschiedlichster Wert 4 Punkte) und die Rangplätze aufsummiert.

Eine deskriptiv vergleichende Auswertung der Hämostyptika erfolgte durch statistischen Vergleich der Mittelwerte. Je mehr signifikante gerinnungssteigernde Unterschiede sich unter Einfluss eines Hämostyptikums zeigten, desto größer wurde das hämostyptische Potential gewertet. Zusätzlich erfolgte ein Vergleich bei „nicht aktivierter Thrombelastometrie“ (NATEM) ohne möglichen Einfluss von spezifischen Aktivatoren. Die Unterschiede unter dem Einfluss von Hämostyptika wurden anhand der Abweichung der Mittelwerte von den menschlichen Referenzwerten ohne Hämostyptikaeinfluss in eine Rangreihenfolge gebracht (ähnlichster Wert 1 Punkt, unterschiedlichster Wert im Sinne einer aktiveren Gerinnung 4 Punkte) und die Rangplätze aufsummiert.

3. Ergebnisse

In den Wertegraphiken unter 3.1.1. bis 3.1.3. sowie 3.2.1. bis 3.2.3. wurden sowohl CFT als auch Steigungswinkel alpha aufgeführt. In der zusammenfassenden Auswertung 3.1.4. und 3.2.5. wurde die CFT nicht berücksichtigt, um eine Doppelaussage bezüglich der Geschwindigkeit der Gerinnelbildung zu vermeiden. Als Parameter der Geschwindigkeit der Gerinnelbildung wurde der Steigungswinkel alpha gewählt, da in den meisten FIBTEM-Messungen des zweiten Studienteils kein CFT-Wert vorliegt, da dieser technisch erst ab einer Thrombusstärke von 20 mm gemessen wird.

3.1. Vergleich der Blutgerinnung Mensch versus Tierspezies

Im ersten Versuchsteil wurde analysiert, welche Tierspezies (Schwein, Schaf, Kaninchen, Hund), gemessen mit der ROTEM[®], dem Menschen hämostaseologisch am ähnlichsten ist.

3.1.1. NATEM Messung

Alle getesteten Tiere hatten eine signifikant kürzere CT bei der NATEM Messung als die Probanden. Die Gerinnelbildung begann bei den Tierspezies früher als bei den Probanden. Den größten Unterschied zum Menschen (851 s, +/- 108,3 s) hatte das Schwein (464 s, +/- 83,3 s), gefolgt von Hund (480 s, +/- 131,3 s) und Schaf (506 s, +/- 112,2 s), den kleinsten Unterschied hatte das Kaninchen (510 s, +/- 100,7 s) (Abb. 5).

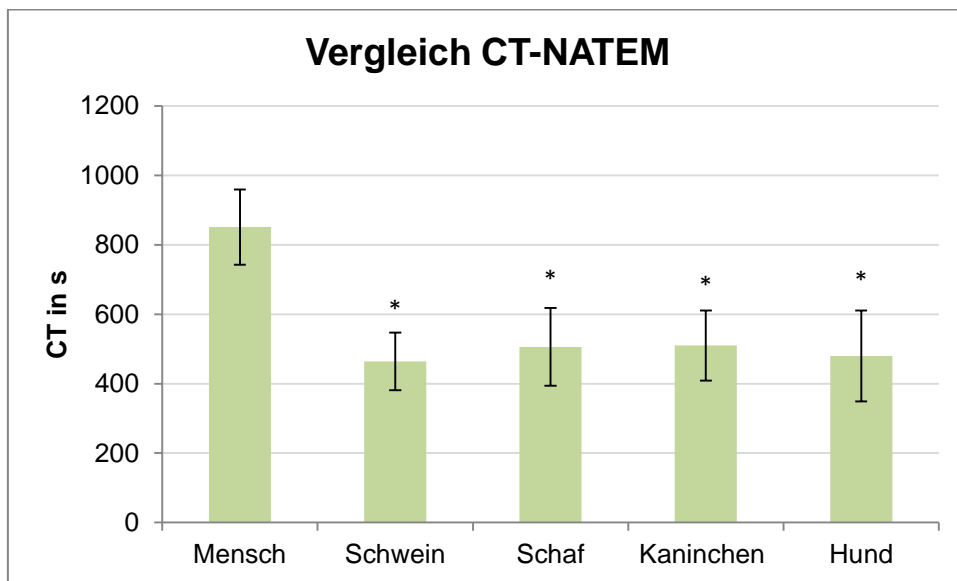


Abb. 5: Vergleich CT-NATEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben bei Mensch, Schwein und Schaf; n = 9 Proben bei Kaninchen und Hund). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber Mensch, $p < 0,05$.

(CT: Clotting Time, NATEM: nicht aktivierte Thrombelastometrie)

Alle Tiere hatten eine signifikant geringere CFT im Vergleich zum Menschen bei der NATEM Messung. Die Gerinnselbildungsgeschwindigkeit der Kaninchen war mit einem Mittelwert von 111 s, +/- 35,8 s über dreimal kleiner im Vergleich zum Menschen (383 s, +/- 102,1 s). Hund (185 s, +/- 70,8 s) und Schaf (185 s, +/- 50,3 s) sind bezüglich der CFT dem Menschen am ähnlichsten, waren jedoch immer noch mehr als doppelt so schnell wie die menschlichen Blutproben. Der CFT Mittelwert der Schweineblutanalysen ist mit 131 s, +/- 37,8 s wesentlich kleiner im Vergleich zum Menschen (Abb. 6).

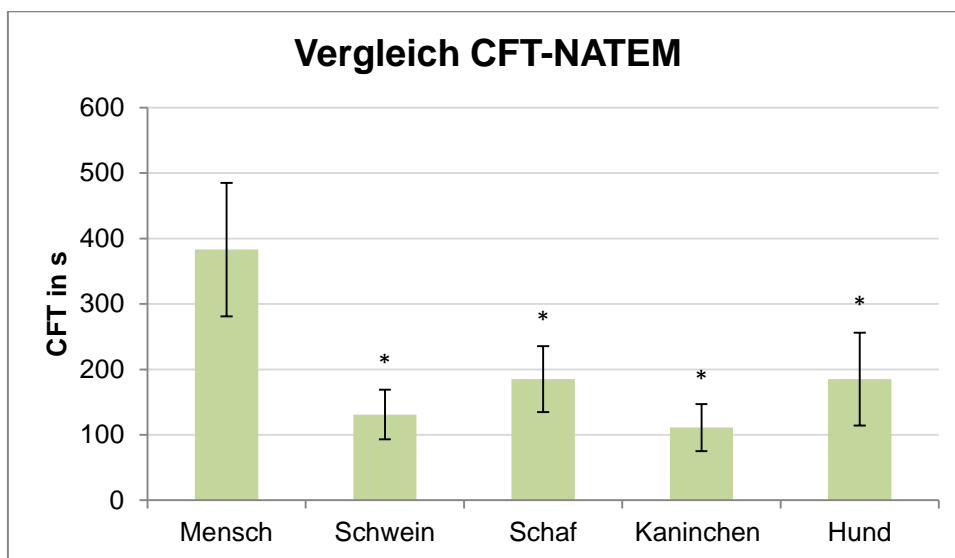


Abb. 6: Vergleich CFT-NATEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben bei Mensch, Schwein und Schaf; n = 9 Proben bei Kaninchen und Hund). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber Mensch, $p < 0,05$.

(CFT: Clot Formation Time, NATEM: nicht aktivierte Thrombelastometrie)

Alle Spezies hatten einen signifikant größeren Steigungswinkel α als die menschlichen Blutproben bei der NATEM Messung und damit eine schnellere Gerinnselformung. Der Mittelwert der Spezies Schaf unterschied sich mit 57° , $\pm 6,0^\circ$ am wenigsten vom Menschen (37° , $\pm 6,6^\circ$), gefolgt von Hund (59° , $\pm 9,6^\circ$) und Schwein (66° , $\pm 6,7^\circ$). Den größten Unterschied zum Menschen zeigte die Spezies Kaninchen mit einem Mittelwert von 71° , $\pm 6,5^\circ$ (Abb. 7).

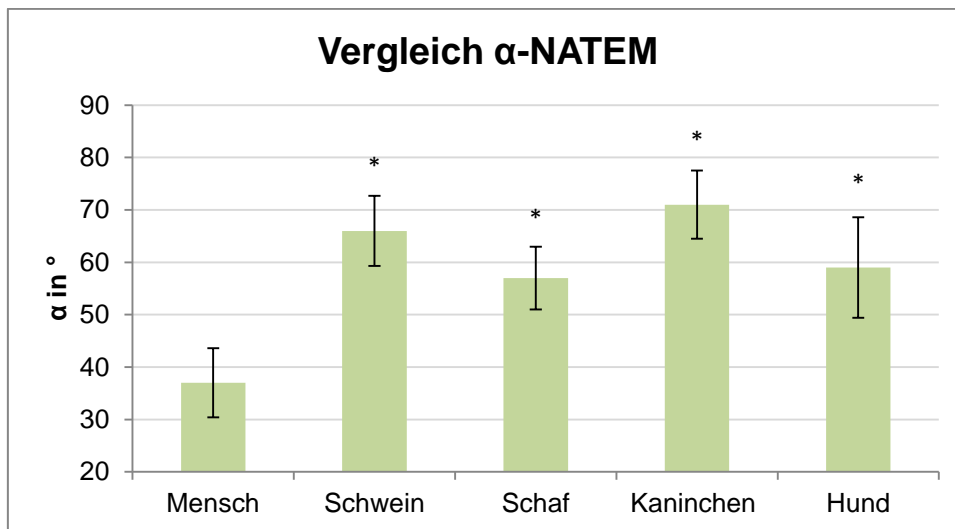


Abb. 7: Vergleich α -NATEM dargestellt als Mittelwert \pm Standardabweichung ($n = 8$ Proben bei Mensch, Schwein und Schaf; $n = 9$ Proben bei Kaninchen und Hund). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber Mensch, $p < 0,05$.

(α : Alpha Winkel, NATEM: nicht aktivierte Thrombelastometrie)

Alle getesteten Spezies hatten signifikant höhere MCF Werte und damit stabilere Thromben bei der NATEM Messung im Vergleich zum Mensch. Die geringste Differenz zum Mittelwert der Probanden (41 mm, +/- 4,0 mm) zeigte die Spezies Hund (54 mm, +/- 6,5 mm), gefolgt von Schwein (56 mm, +/- 7,8 mm) und Schaf (67 mm, +/- 3,9 mm). Mit einem Mittelwert von 71 mm, +/- 4,5 mm unterschied sich das Kaninchen am stärksten von den menschlichen MCF Werten (Abb. 8).

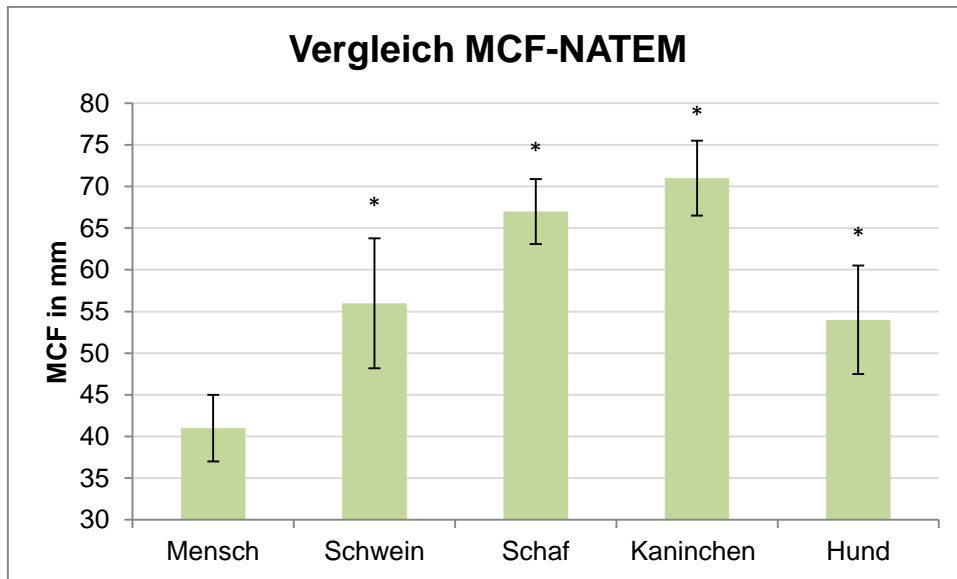


Abb. 8: Vergleich MCF-NATEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben bei Mensch, Schwein und Schaf; n = 9 Proben bei Kaninchen und Hund). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber Mensch, $p < 0,05$.

(MCF: Maximum Clot Firmness, NATEM: nicht aktivierte Thrombelastometrie)

Lediglich Mensch und Schwein hatten eine messbare Lyse zum Zeitpunkt 45 min nach Beginn der Gerinnungsbildung, was für eine ähnlich aktive Fibrinolyse spricht. Beim Menschen (94 %, +/- 4,6 %) hatten sich nach 45 min im Mittel 6 % des Gerinnsels aufgelöst und beim Schwein 8 % (92 %, +/- 3,3 %). Hund (100 %, +/- 0,0 %), Schaf (100 %, +/- 0,0 %) und Kaninchen (100 %, +/- 0,3 %) zeigten im Gegensatz zum Schwein einen signifikanten Unterschied zum Menschen, bei diesen Spezies war nach 45 min noch keine Lyse festzustellen (Abb. 9).

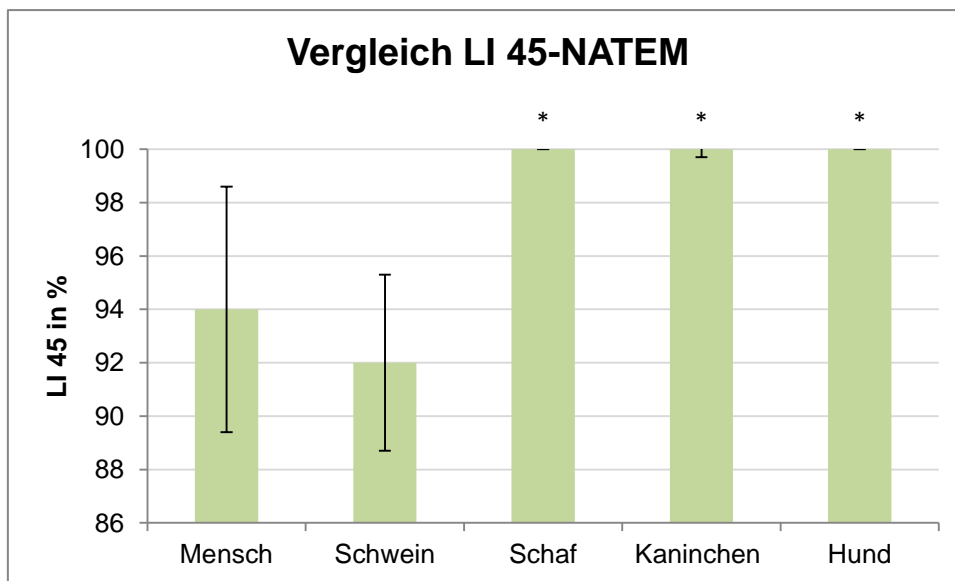


Abb. 9: Vergleich LI 45-NATEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben bei Mensch, Schwein und Schaf; n = 9 Proben bei Kaninchen und Hund). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber Mensch, $p < 0,05$.

(LI 45: Lyse Index 45 Minuten nach Beginn der Gerinnung, NATEM: nicht aktivierte Thrombelastometrie)

3.1.2. EXTEM Messung

Bei der extrinsisch aktivierten Gerinnungsmessung zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Mensch und Tier bei der CT. Die Mittelwerte von Mensch (48 s, +/- 5,9 s) und Schaf (48 s, +/- 12,0 s) waren gleich. Das Kaninchen zeigte mit einem Mittelwert von 40 s, +/- 5,1 s den größten Unterschied zum Menschen. Den nächst geringeren Unterschied zum Menschen hatte das Schwein (45 s, +/- 6,7 s). Mit einem Mittelwert von 52 s, +/- 19 s hatte der Hund als einzige Spezies eine längere CT als der Mensch (Abb. 10).

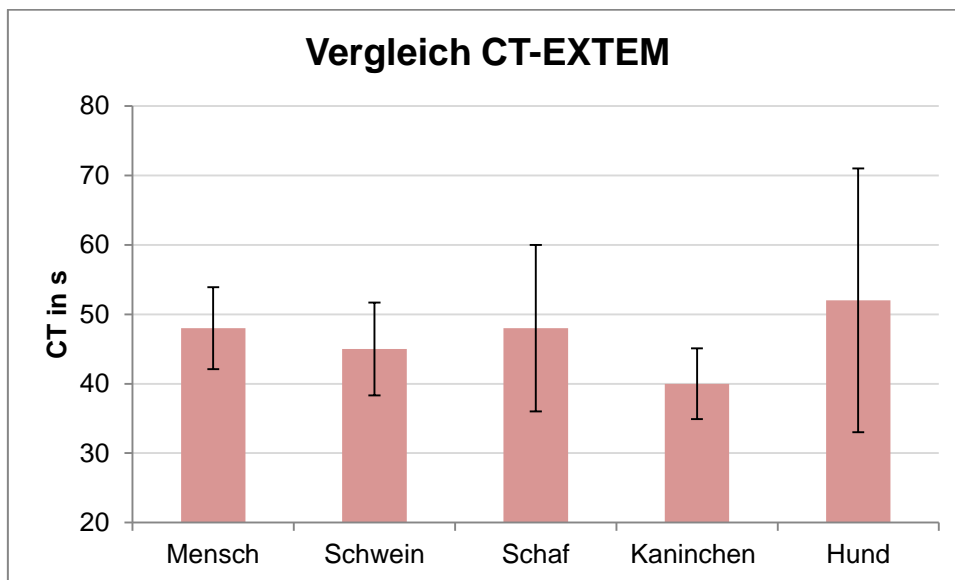


Abb. 10: Vergleich CT-EXTEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben bei Mensch, Schwein und Schaf; n = 9 Proben bei Kaninchen und Hund). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber Mensch, $p < 0,05$.

(CT: Clotting Time, EXTEM: extrinsisch aktivierte Thrombelastometrie)

Bei den Spezies Schaf (87 s, +/- 40,1 s) und Hund (112 s, +/- 13,3 s) gab es keine signifikanten Unterschiede bezüglich der CFT der EXTEM Messung, was für eine ähnliche Geschwindigkeit bei der Gerinnselbildung spricht. Der Hund hatte als einzige Tierart eine höhere CFT verglichen zum Menschen (101 s, +/- 20,5 s) und wies den geringsten Unterschied zum Menschen auf. Schwein (57 s, +/- 9,5 s) und Kaninchen (65 s, +/- 11,6 s) hatten signifikante Unterschiede zum Menschen, die Spezies Schwein zeigte den größten Unterschied zum menschlichen CFT Mittelwert bei der EXTEM Messung (Abb. 11).

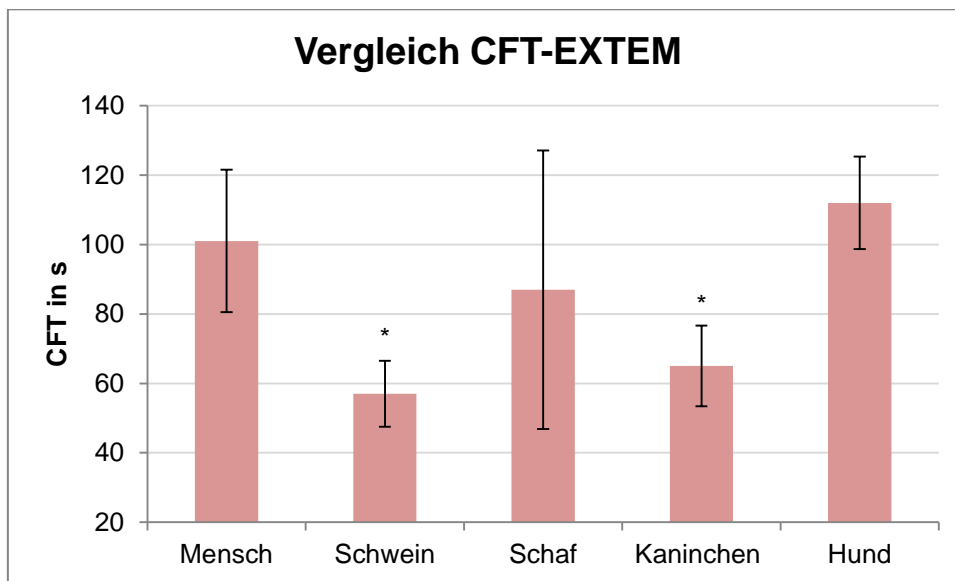


Abb. 11: Vergleich CFT-EXTEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben bei Mensch, Schwein und Schaf; n = 9 Proben bei Kaninchen und Hund). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber Mensch, $p < 0,05$.

(CFT: Clot Formation Time, EXTEM: extrinsisch aktivierte Thrombelastometrie)

Hund (69°, +/- 2,1°) und Schaf (75°, +/- 8,8°) zeigten keinen signifikanten Unterschied bezüglich des Steigungswinkel alpha bei der extrinsisch aktivierten Gerinnung. Der Hund hatte als einzige Spezies einen geringeren Steigungswinkel als der Mensch (70°, +/- 3,6°) und zeigte den geringsten Unterschied zum Menschen. Schwein (79°, +/- 1,8°) und Kaninchen (77°, +/- 2,4°) unterschieden sich signifikant vom Menschen, wobei das Schwein den größten Unterscheid im Sinne einer schnelleren Gerinnungsgeschwindigkeit zeigte (Abb. 12).

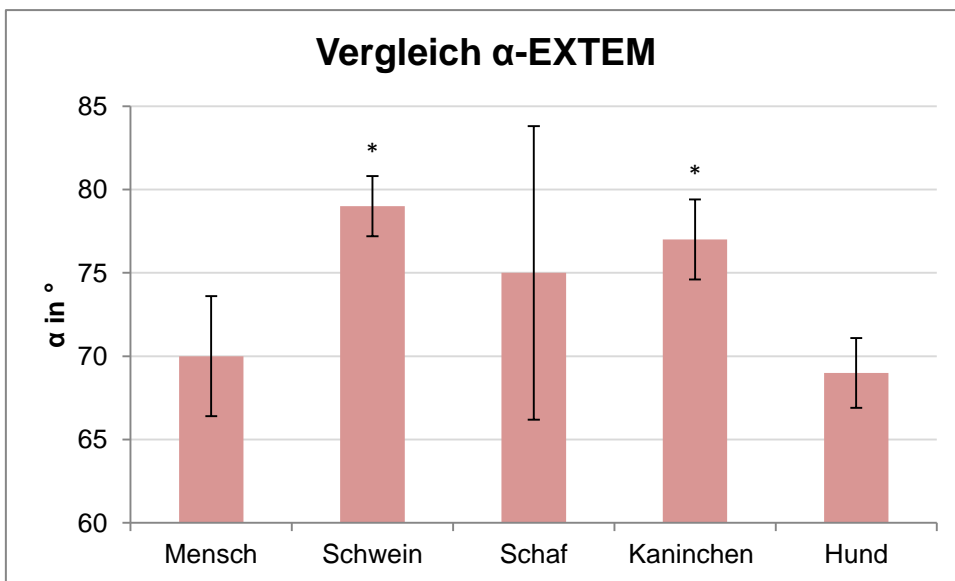


Abb. 12: Vergleich α -EXTEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben bei Mensch, Schwein und Schaf; n = 9 Proben bei Kaninchen und Hund). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber Mensch, $p < 0,05$.

(α : Alpha Winkel, EXTEM: extrinsisch aktivierte Thrombelastometrie)

Bei der extrinsisch aktivierten Gerinnungsmessung hatten alle Tierspezies außer dem Hund (57 mm, +/- 4,6 mm) signifikant höhere MCF Werte und somit stabilere Blutgerinnsel im Vergleich zu den Probanden (55 mm, +/- 3,2 mm). Den größten Unterschied zeigte die Spezies Schaf mit einem Mittelwert von 75 mm, +/- 5,0 mm, gefolgt vom Schwein (65 mm, +/- 2,5 mm) und Kaninchen (64 mm, +/- 3,3 mm) (Abb. 13).

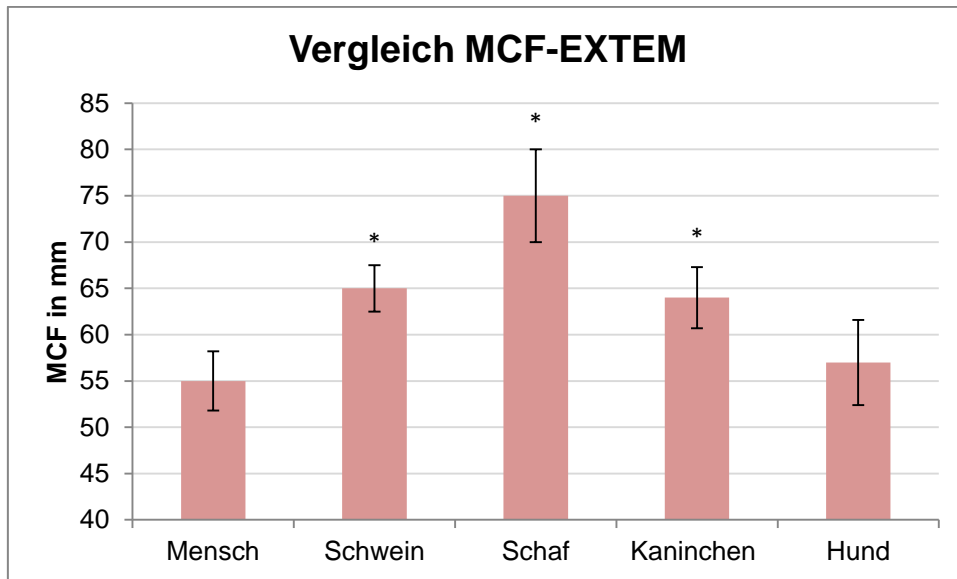


Abb. 13: Vergleich MCF-EXTEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben bei Mensch, Schwein und Schaf; n = 9 Proben bei Kaninchen und Hund). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber Mensch, $p < 0,05$.

(MCF: Maximum Clot Firmness, EXTEM: extrinsisch aktivierte Thrombelastometrie)

Bezüglich des LI 45 zeigten alle Spezies einen signifikanten Unterschied zum Menschen im Sinne einer geringeren Fibrinolyse bei der extrinsisch aktivierten Blutgerinnung. Den geringsten Unterschied zum Menschen (89 %, +/- 1,8 %) hatte das Schwein (95 %, +/- 3,3 %). Bei den Spezies Schaf (100 %, +/- 0,0 %), Kaninchen (100 %, +/- 0,0 %) und Hund (100 %, +/- 0,7 %) setzte zu diesem Zeitpunkt noch keine wesentliche Lyse des Blutgerinnsels ein (Abb. 14).

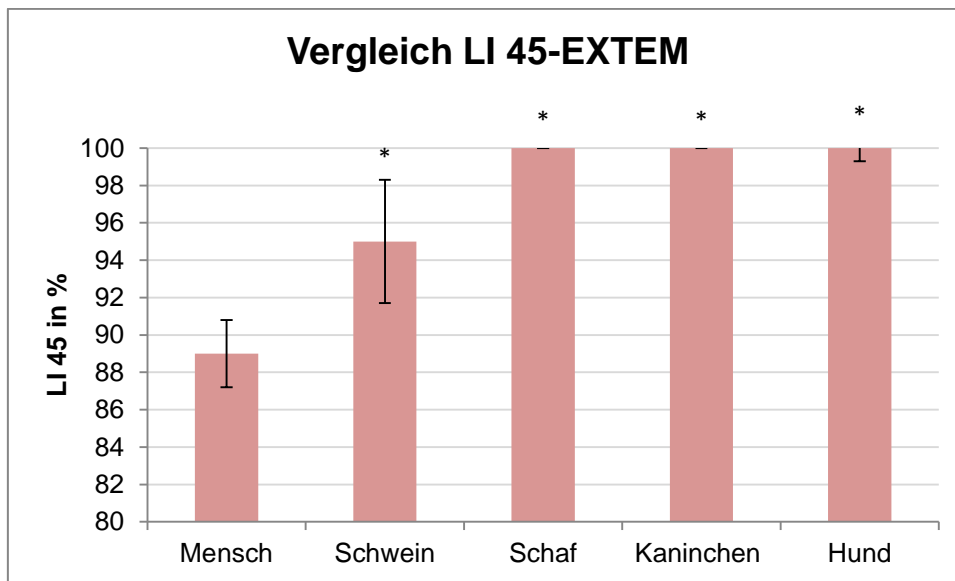


Abb. 14: Vergleich LI 45-EXTEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben bei Mensch, Schwein und Schaf; n = 9 Proben bei Kaninchen und Hund). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber Mensch, $p < 0,05$.

(LI 45: Lyse Index 45 Minuten nach Beginn der Gerinnung, EXTEM: extrinsisch aktivierte Thrombelastometrie)

3.1.3. INTEM Messung

Bei der Zeitspanne bis zum Beginn der Gerinnselformung in der intrinsisch aktivierten Gerinnungsmessung hatte keine Tierspezies einen signifikanten Unterschied zum Menschen. Die Spezies Schwein (138 s, +/- 24,1 s) hatte den größten Unterschied, gefolgt von Hund (168 s, +/- 14,2 s) und Schaf (171 s, +/- 49,5 s). Das Kaninchen (179 s, +/- 10,4 s) hatte als einzige Spezies einen größeren Mittelwert und gleichzeitig den geringsten Unterschied bei der CT-INTEM im Vergleich zum Menschen (176 s, +/- 22,4 s) (Abb. 15).

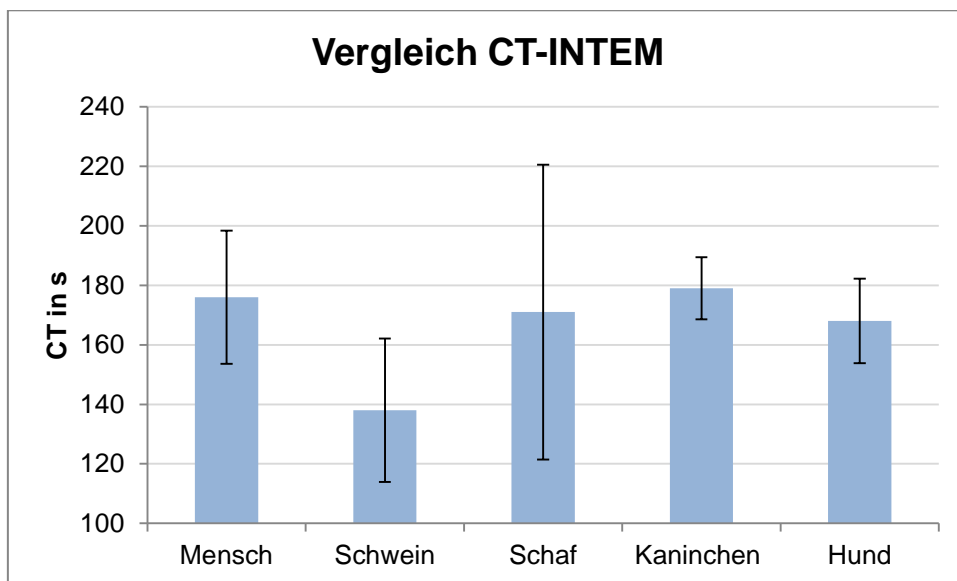


Abb. 15: Vergleich CT-INTEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben bei Mensch, Schwein und Schaf; n = 9 Proben bei Kaninchen und Hund). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber Mensch, $p < 0,05$.

(CT: Clotting Time, INTEM: intrinsisch aktivierte Thrombelastometrie)

Der Mittelwert der Zeitspanne vom Beginn der Gerinnung bis zum Erreichen einer Amplitude von 20 mm zeigte bei allen getesteten Spezies, außer dem Schaf (63 s, +/- 15,4 s), einen signifikanten Unterschied zum Menschen (82 s, +/- 12,7 s) bei der intrinsisch aktivierten Gerinnungsmessung. Das Kaninchen (48 s, +/- 4,7 s) hatte den größten Unterschied, gefolgt vom Schwein (49 s, +/- 10,9 s). Beim Hund (112 s, +/- 26,9 s) verfestigte sich das Blutgerinnsel signifikant langsamer nach Beginn der Gerinnung als beim Menschen, die Geschwindigkeit der Gerinnselbildung war daher geringer als bei den Probanden (Abb. 16).

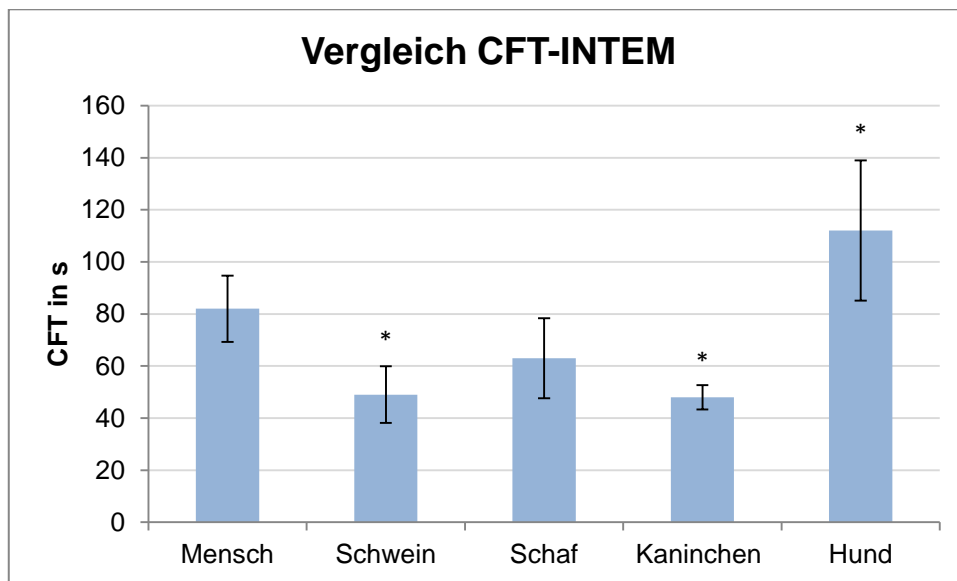


Abb. 16: Vergleich CFT-INTEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben bei Mensch, Schwein und Schaf; n = 9 Proben bei Kaninchen und Hund). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber Mensch, $p < 0,05$.

(CFT: Clot Formation Time, INTEM: intrinsisch aktivierte Thrombelastometrie)

Der Steigungswinkel α zeigte bei der intrinsisch aktivierten Gerinnungsmessung bei allen Spezies außer dem Schaf (78° , $\pm 3,1^\circ$) einen signifikanten Unterschied zum Menschen (74° , $\pm 2,5^\circ$). Den größten Unterschied zum Mittelwert der Probanden hatten die Spezies Kaninchen (80° , $\pm 1,1^\circ$) und Schwein (80° , $\pm 2,2^\circ$) im Sinne einer schnelleren Geschwindigkeit der Gerinnungsbildung. Beim Hund (69° , $\pm 4,0^\circ$) zeigte sich ein signifikant kleinerer Anstiegswinkel α im Vergleich zum Menschen, was für eine geringere Geschwindigkeit der Gerinnungsbildung spricht (Abb. 17).

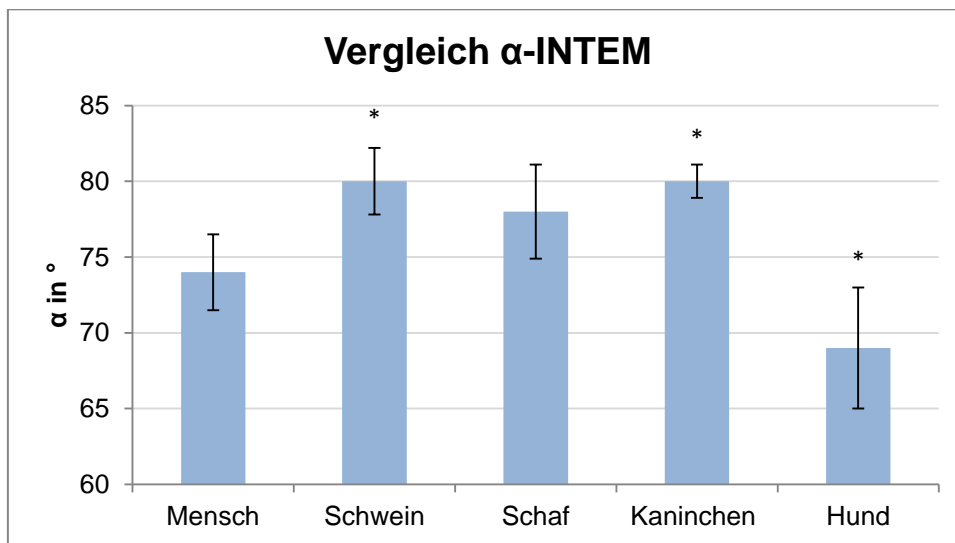


Abb. 17: Vergleich α -INTEM dargestellt als Mittelwert \pm Standardabweichung ($n = 8$ Proben bei Mensch, Schwein und Schaf; $n = 9$ Proben bei Kaninchen und Hund). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber Mensch, $p < 0,05$.

(α : Alpha Winkel, INTEM: intrinsisch aktivierte Thrombelastometrie)

Alle Tierarten außer dem Hund (57 mm, +/- 4,2 mm) hatten einen signifikanten Unterschied bei der intrinsisch aktivierten Gerinnungsmessung der MCF im Vergleich zum Menschen (52 mm, +/- 3,5 mm). Schwein (64 mm, +/- 5,3 mm), Schaf (75 mm, +/- 5,5 mm) und Kaninchen (64 mm, +/- 3,1 mm) bildeten stabilere Thromben im Vergleich zum Menschen. Den geringsten Unterschied zum Menschen hatte die Spezies Hund, den größten Unterschied zum Menschen zeigte die Spezies Schaf (Abb. 18).

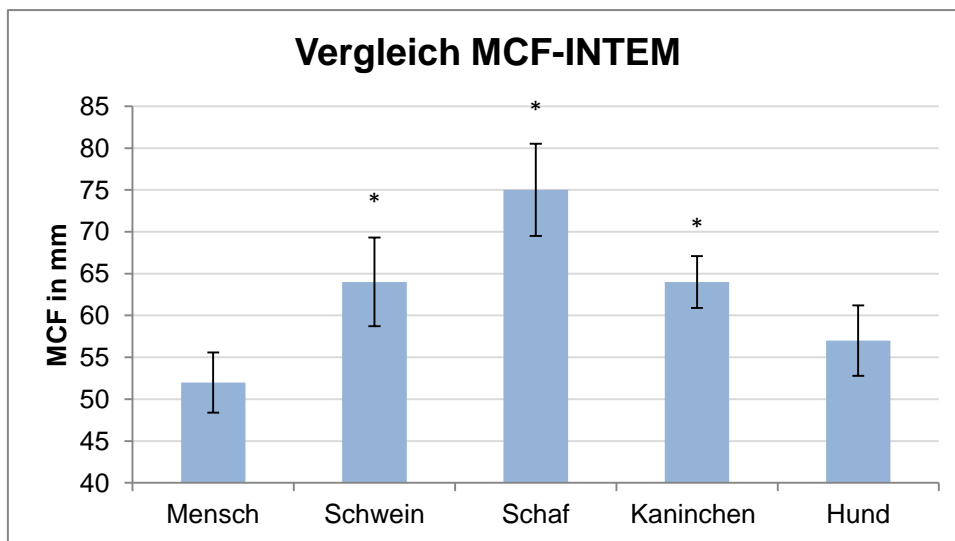


Abb. 18: Vergleich MCF-INTEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben bei Mensch, Schwein und Schaf; n = 9 Proben bei Kaninchen und Hund). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber Mensch, $p < 0,05$.

(MCF: Maximum Clot Firmness, INTEM: intrinsisch aktivierte Thrombelastometrie)

Bei der intrinsisch aktivierten Gerinnungsmessung zeigte das Schwein (90 %, +/- 4,1 %) als einzige Spezies keinen signifikanten Unterschied zum Menschen (89 %, +/- 3,2 %) bezüglich des Lyse Index 45. Bei den anderen getesteten Spezies zeigten sich signifikant höhere LI 45 Werte, das heißt beständigere Thromben im Vergleich zum Menschen. Bei den Spezies Schaf und Kaninchen setzte 45 Minuten nach Beginn der Gerinnung noch keine messbare Lyse der Blutgerinnsel ein (100 %, +/- 0,0 %), beim Hund nur eine geringe (99 %, +/- 3,0 %) (Abb. 19).

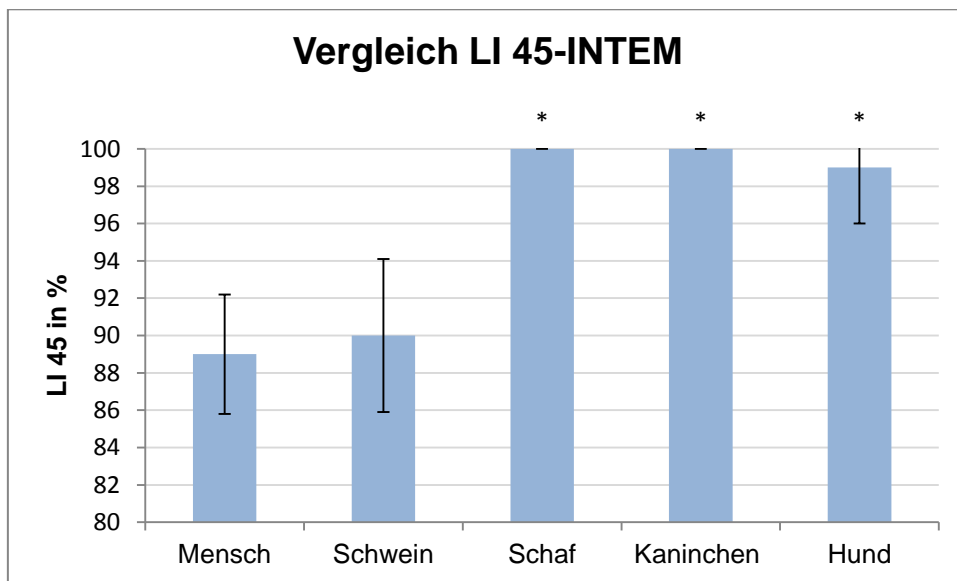


Abb. 19: Vergleich LI 45-INTEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben bei Mensch, Schwein und Schaf; n = 9 Proben bei Kaninchen und Hund). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber Mensch, $p < 0,05$.

(LI 45: Lyse Index 45 Minuten nach Beginn der Gerinnung, INTEM: intrinsisch aktivierte Thrombelastometrie)

3.1.4. Zusammenfassung Unterschiede zwischen Tierspezies und dem Menschen

Die Gerinnung ist bei den hier untersuchten Tierarten im Vergleich zum Menschen, vor allem in der NATEM Messung, deutlich verstärkt. Bei den EXTEM- und INTEM Messungen fällt der Unterschied weniger stark aus (Tab. 1).

Tab. 1: Anzahl der signifikant unterschiedlichen Messungen der Tierspezies (n = 8 Proben bei Schwein und Schaf; n = 9 Proben bei Kaninchen und Hund), verglichen zum Menschen (n = 8 Proben), aufgeschlüsselt nach Messparametern und Reagenzien.

(CT: Clotting Time, α : Alpha Winkel, MCF: Maximum Clot Firmness, LI 45: Lyse Index 45 Minuten nach Beginn der Gerinnung, NATEM: nicht aktivierte Thrombelastometrie, EXTEM: extrinsisch aktivierte Thrombelastometrie, INTEM: intrinsisch aktivierte Thrombelastometrie)

	NATEM	EXTEM	INTEM
CT (s)	4	0	0
α (°)	4	2	3
MCF (mm)	4	3	3
LI 45 (%)	3	4	3
Summe	15	9	9

Der Hund wies die wenigsten signifikanten Unterschiede zum Menschen auf, die meisten Unterschiede hatte das Kaninchen (Tab. 2).

Die Spezies Hund zeigte bei der Stärke der gebildeten Thromben (MCF) die größte Ähnlichkeit zum Menschen. Die Beständigkeit der Thromben (LI 45) war hingegen bei allen Messreihen signifikant höher als beim Menschen. Bezüglich der Gerinnungskinetik (CT und α) hatte der Hund größere Ähnlichkeit zum Menschen als Schwein und Kaninchen jedoch geringere als das Schaf (Tab. 2). Das Schaf zeigte besonders bezüglich der Kinetik der Gerinnung (CT und α) Ähnlichkeit zum Menschen. Stärke (MCF) und Beständigkeit (LI 45) der Gerinnung zeigten bei allen Messreihen signifikante Unterschiede hin zu einer aktiveren Gerinnung beim Schaf, was für eine geringe Ähnlichkeit zum Menschen bei diesen Parametern spricht (Tab. 2). Das Schwein hatte bezüglich des Lyseverhaltens (LI 45) von allen Spezies die größte Ähnlichkeit zum Menschen. In Bezug auf Gerinnungskinetik (CT und α) und Stärke der Thromben (MCF) zeigte das

Schwein geringere Ähnlichkeit zum Menschen als Schaf und Hund (Tab. 2). Das Kaninchen zeigte, abgesehen von einem ähnlichen Gerinnungsbeginn (CT), keine besondere Ähnlichkeit zum Menschen (Tab. 2).

Tab. 2: Anzahl der signifikant unterschiedlichen Messungen (NATEM-, EXTEM-, INTEM Messung), verglichen zum Menschen (n = 8 Proben), aufgeschlüsselt nach Messparametern und Tierarten (n = 8 Proben bei Schwein und Schaf; n = 9 Proben bei Kaninchen und Hund).

(CT: Clotting Time, α : Alpha Winkel, MCF: Maximum Clot Firmness, LI 45: Lyse Index 45 Minuten nach Beginn der Gerinnung, NATEM: nicht aktivierte Thrombelastometrie, EXTEM: extrinsisch aktivierte Thrombelastometrie, INTEM: intrinsisch aktivierte Thrombelastometrie)

	Schwein	Schaf	Kaninchen	Hund
CT (s)	1	1	1	1
α (°)	3	1	3	2
MCF (mm)	3	3	3	1
LI 45 (%)	1	3	3	3
Summe	8	8	10	7

Zusätzlich erfolgte ein deskriptiver Vergleich bei der natürlichen Gerinnung (NATEM Messung) ohne den möglichen Einfluss von spezifischen Aktivatoren der extrinsischen und intrinsischen Gerinnungskaskade (Tab. 3). Hier sind das Schaf und der Hund dem Menschen am ähnlichsten, gefolgt von Schwein und Kaninchen (Tab. 3). Bezüglich der Gerinnungskinetik (CT und α) zeigte das Schaf die größte Ähnlichkeit zum Menschen, hinsichtlich Stabilität der Gerinnsel (MCF) der Hund und die Lyse der Gerinnsel war beim Schwein am ähnlichsten zum Menschen (Tab. 3).

Tab. 3: Deskriptiver Vergleich der Gerinnung des Menschen zum Schwein, Schaf, Kaninchen und Hund anhand der Größe der Unterschiede der Mittelwerte in der NATEM Messung (n = 8 Proben bei Mensch, Schwein und Schaf; n = 9 Proben bei Kaninchen und Hund). Rangfolge: +(1) kleinster Unterschied zum Menschen, ++++(4) größter Unterschied zum Menschen.

(CT: Clotting Time, α : Alpha Winkel, MCF: Maximum Clot Firmness, LI 45: Lyse Index 45 Minuten nach Beginn der Gerinnung, NATEM: nicht aktivierte Thrombelastometrie)

NATEM	Mensch	Schwein	Schaf	Kaninchen	Hund
CT (s)	0	++++ (4)	++ (2)	+ (1)	+++ (3)
α (°)	0	+++ (3)	+ (1)	++++ (4)	++ (2)
MCF (mm)	0	++ (2)	+++ (3)	++++ (4)	+ (1)
LI 45 (%)	0	+ (1)	++ (2)	++ (2)	++ (2)
Summe	0	10	8	11	8

3.2. Vergleich Hämostyptika im humanen Blut

Im zweiten Versuchsteil wurde analysiert, welches Hämostyptikum (QuikClot[®] Gauze[™], Celox[™] Gauze, QuikClot[®] ACS+[™], und H&H PriMed Compressed Gauze), gemessen mit der ROTEM[®], beim Menschen die höchste Wirksamkeit aufweist.

3.2.1. NATEM Messung

Der Mittelwert der CT war unter dem Einfluss von QCG (181 s, +/- 80,7 s), CelG (555 s, +/- 121,8 s) und H&HG (374 s, +/- 97,9 s) signifikant kürzer, führte also zu einem schnelleren Gerinnungsbeginn bei der NATEM Messung. QCG hatte den größten Unterschied zum Normalwert ohne Hämostyptikum (851 s, +/- 108,3 s). QC ACS+ (718 s, +/- 150,8 s) hatte den geringsten Unterschied zum Vergleichswert und keinen signifikanten Unterschied (Abb. 20).

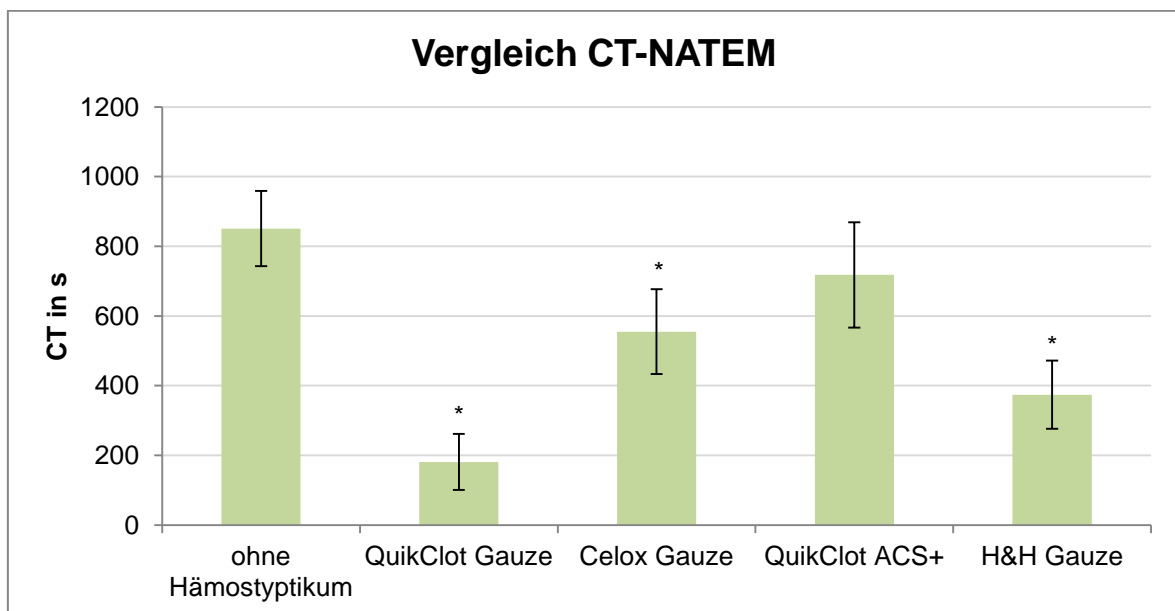


Abb. 20: Vergleich CT-NATEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben in jeder Gruppe). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber ohne Hämostyptikum, p<0,05. (CT: Clotting Time, NATEM: nicht aktivierte Thrombelastometrie)

QCG (167 s, +/- 65,0 s) führte als einziges Hämostyptikum zu einer signifikanten Reduzierung der CFT bei der NATEM Messung, was für eine erhöhte Geschwindigkeit der Gerinnselformung spricht. QC ACS+ (291 s, +/- 28,9 s) hatte eine kürzere CFT im Vergleich zum Wert ohne Hämostyptikum (383 s, +/- 102,1 s). Die Mittelwerte der CFT waren unter Einfluss von H&HG (448 s, +/- 104,5 s) und CelG (517 s, +/- 178,4 s) länger als ohne Zugabe eines hämostyptischen Zusatzes (Abb. 21).

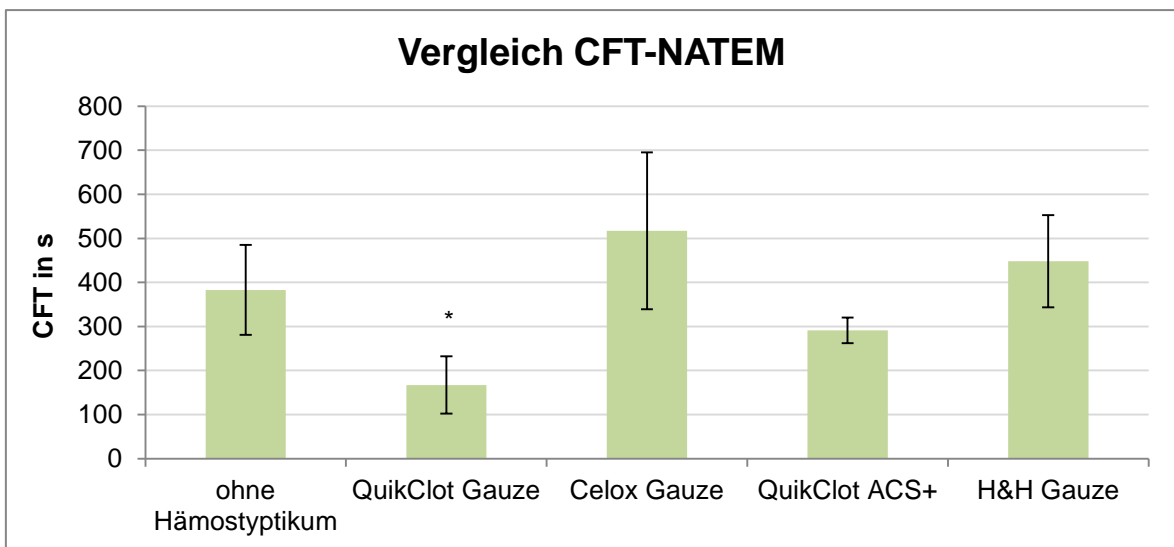


Abb. 21: Vergleich CFT-NATEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben in jeder Gruppe). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber ohne Hämostyptikum, $p < 0,05$. (CFT: Clot Formation Time, NATEM: nicht aktivierte Thrombelastometrie)

Der Mittelwert des Steigungswinkels alpha wurde nur unter dem Einfluss von QCG (60°, +/- 9,1°), im Vergleich zum Normalwert ohne Hämostyptikum (37°, +/- 6,6°) signifikant erhöht, somit war die Geschwindigkeit der Gerinnelbildung unter Einfluss von QCG größer. QC ACS+ (45°, +/- 4,9°) hatte einen nicht signifikant größeren Steigungswinkelmittelwert als der Wert ohne hämostyptischen Zusatz. CelG (35°, +/- 5,1°) und H&HG (35°, +/- 3,9°) hatten kleinere Werte für alpha und den geringsten Unterschied im Vergleich zum Wert ohne Hämostyptikum (Abb. 22).

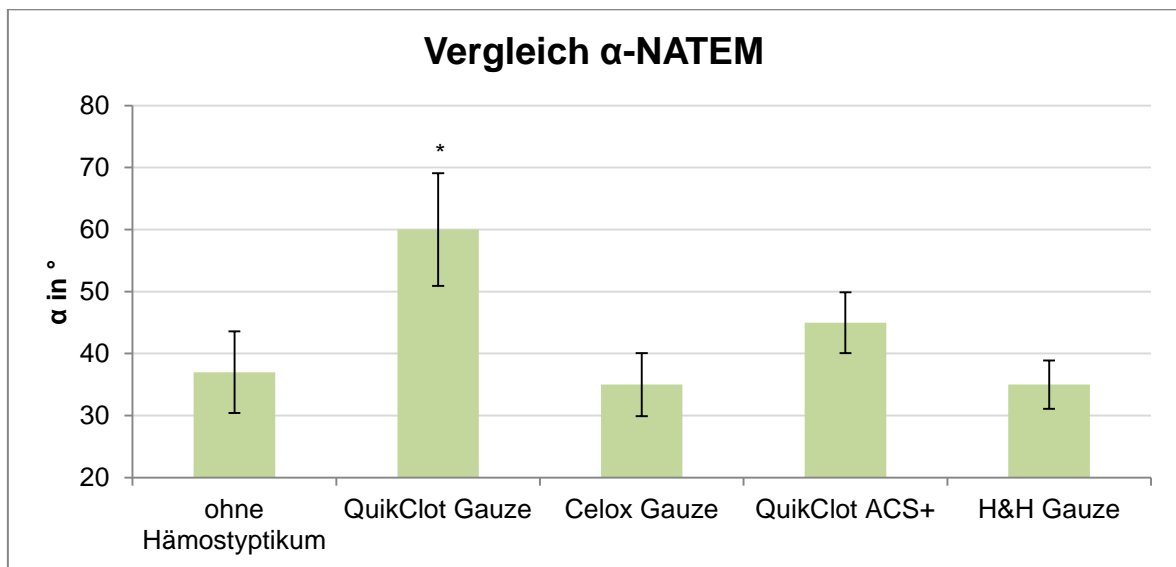


Abb. 22: Vergleich α -NATEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben in jeder Gruppe). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber ohne Hämostyptikum, $p < 0,05$. (α : Alpha Winkel, NATEM: nicht aktivierte Thrombelastometrie)

QCG (56 mm, +/- 6,6 mm), CelG (50 mm, +/- 5,3 mm) und H&HG (49 mm, +/- 4,2 mm) führten zu signifikant höheren MCF Mittelwerten im Vergleich zum Normalwert ohne Hämostyptikum (41 mm, +/- 4,0 mm), was für die Bildung stabilerer Thromben bei der NATEM Messung steht. QC ACS+ (45 mm, +/- 2,8 mm) konnte als einziges Hämostyptikum keine signifikante Erhöhung der MCF erzielen (Abb. 23).

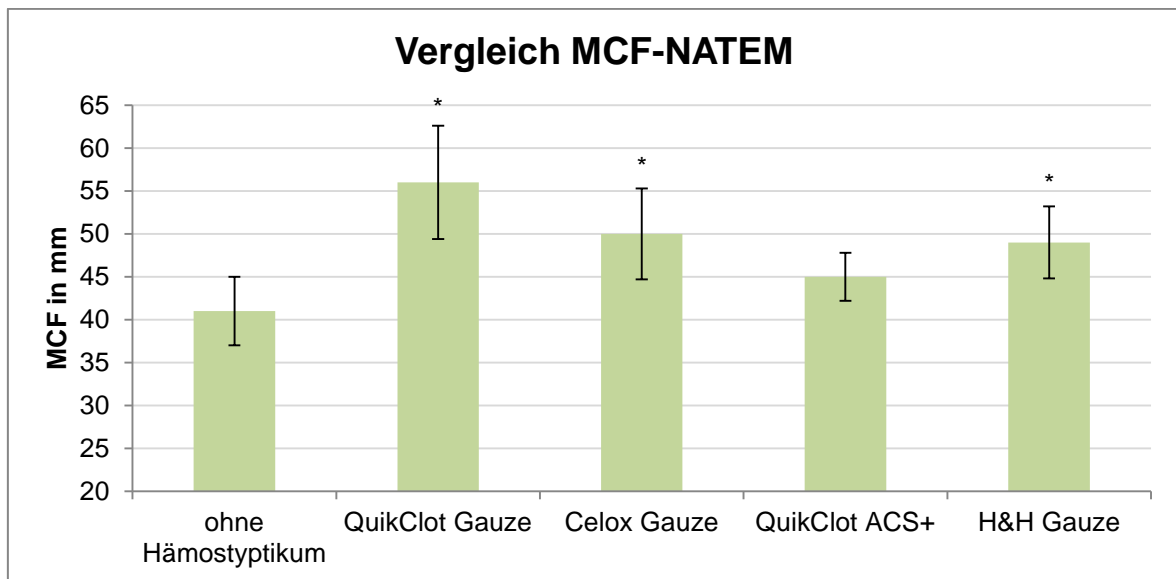


Abb. 23: Vergleich MCF-NATEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben in jeder Gruppe). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber ohne Hämostyptikum, $p < 0,05$. (MCF: Maximun Clot Firmness, NATEM: nicht aktivierte Thrombelastometrie)

Die Stabilität des Thrombus, 45 min nach Beginn der Gerinnelbildung wurde durch CelG (99 %, +/- 1,4 %) und H&HG (98 %, +/- 2,3 %) signifikant erhöht, d.h. die Gerinnsel waren beständiger. QCG (93 %, +/- 3,1 %) und QC ACS+ (94 %, +/- 2,4 %) hatten keinen signifikanten Einfluss auf den LI 45 Wert im Vergleich zum Wert ohne Hämostyptikum (94 %, +/- 4,6 %) (Abb. 24).

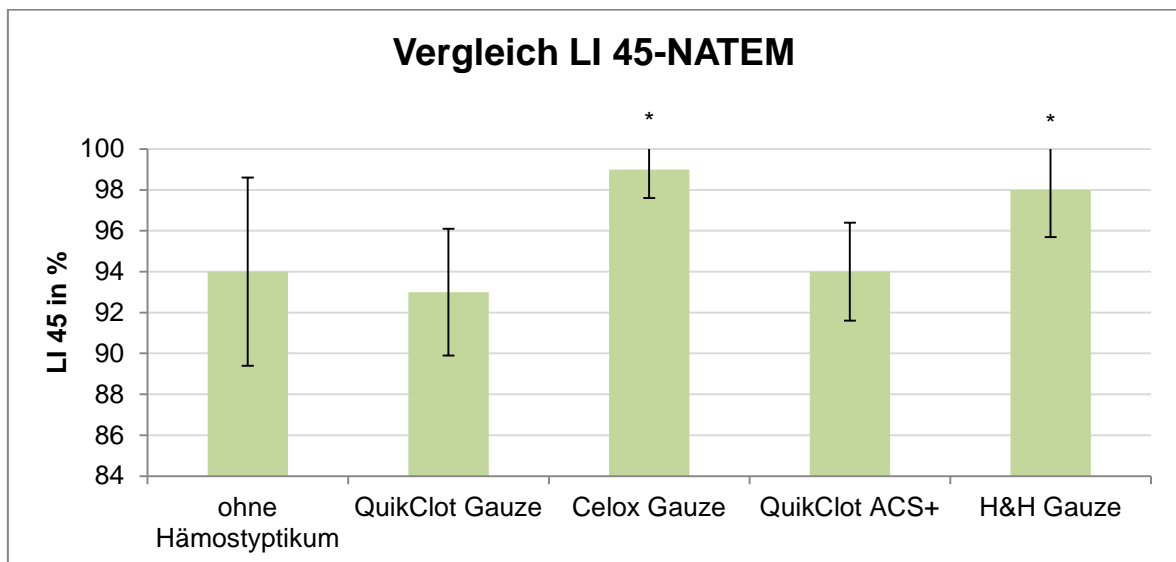


Abb. 24: Vergleich LI 45-NATEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben in jeder Gruppe). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber ohne Hämostyptikum, $p < 0,05$.

(LI 45: Lyse Index 45 min nach Beginn der Gerinnung, NATEM: nicht aktivierte Thrombelastometrie)

3.2.2. EXTEM Messung

H&HG (25 s, +/- 11,4 s) und CelG (26 s, +/- 7,5 s) führten zu signifikant kürzeren CT Werten im Vergleich zum Normalwert ohne Hämostyptikum (48 s, +/- 5,9 s) unter extrinsischer Gerinnungsaktivierung. QCG (30 s, +/- 18,1 s) und QC ACS+ (49 s, +/- 13,7 s) führten zu keiner signifikant schnelleren Thrombusbildung im Vergleich zum Wert ohne Hämostyptikum (Abb. 25).

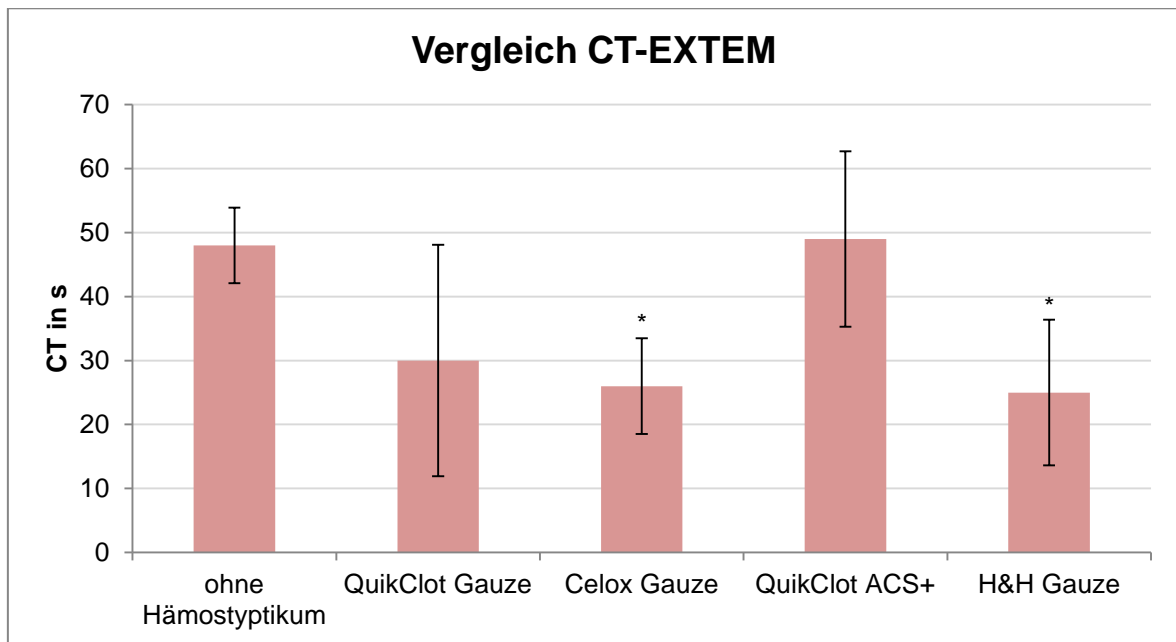


Abb. 25: Vergleich CT-EXTEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben in jeder Gruppe). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber ohne Hämostyptikum, $p < 0,05$.

(CT: Clotting Time, EXTEM: extrinsisch aktivierte Thrombelastometrie)

Bei der EXTEM Messung der CFT kam es zu keinen signifikanten Unterschieden durch Hämostyptikainkubation gegenüber der Messung ohne hämostyptischen Zusatz (101 s, +/- 20,5 s). QC ACS+ (121 s, +/- 42,0 s) gefolgt von H&HG (104 s, +/- 34,3 s) hatten größere Mittelwerte für CFT. CelG (95 s, +/- 24,0 s) und QCG (92 s, +/- 19,9 s) hatten im Mittel kürzere CFT-Werte im Vergleich zum Wert ohne Hämostyptikum (Abb. 26).

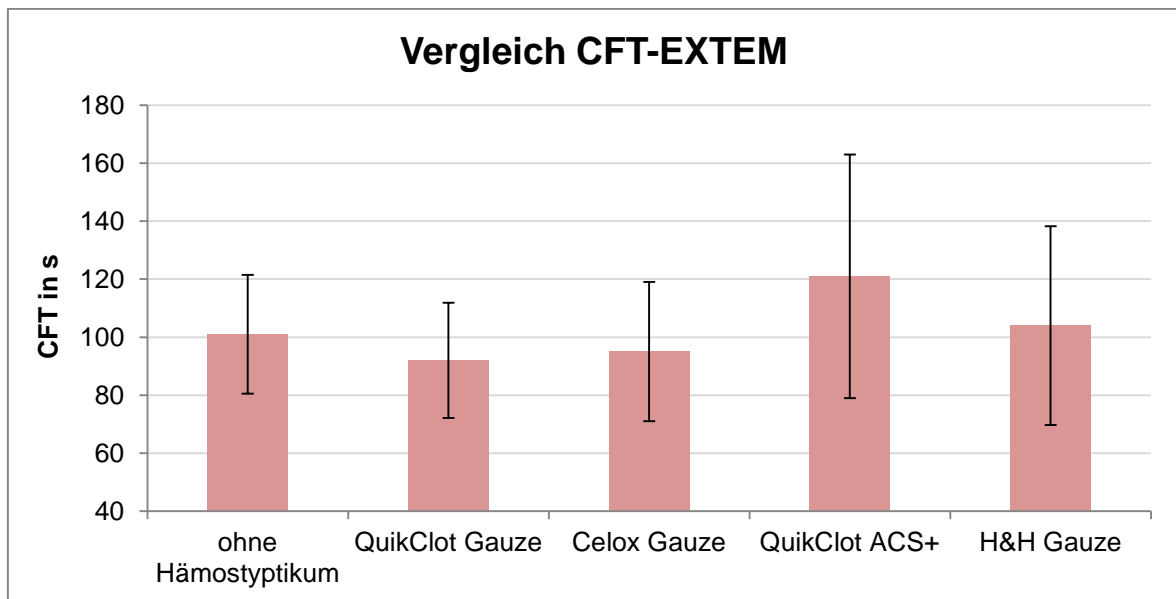


Abb. 26: Vergleich CFT-EXTEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben in jeder Gruppe). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber ohne Hämostyptikum, $p < 0,05$. (CFT: Clot Formation Time, EXTEM: extrinsisch aktivierte Thrombelastometrie)

Bei der extrinsisch aktivierten Gerinnungsmessung kam es zu keinen signifikanten Unterschieden des Anstiegswinkels alpha unter dem Einfluss von Hämostyptika. CelG hatte mit einem Mittelwert von 76°, +/- 5,8° den größten Anstiegswinkel, d.h. die Gerinnelbildung schritt am schnellsten voran, gefolgt von QCG (75°, +/- 4,3°) und H&HG (71°, +/- 5,1°). QC ACS+ hatte mit einem Mittelwert von 68°, +/- 7,3° als einziges Hämostyptikum einen kleineren Steigungswinkel als die Vergleichsgruppe (70°, +/- 3,6°) (Abb. 27).

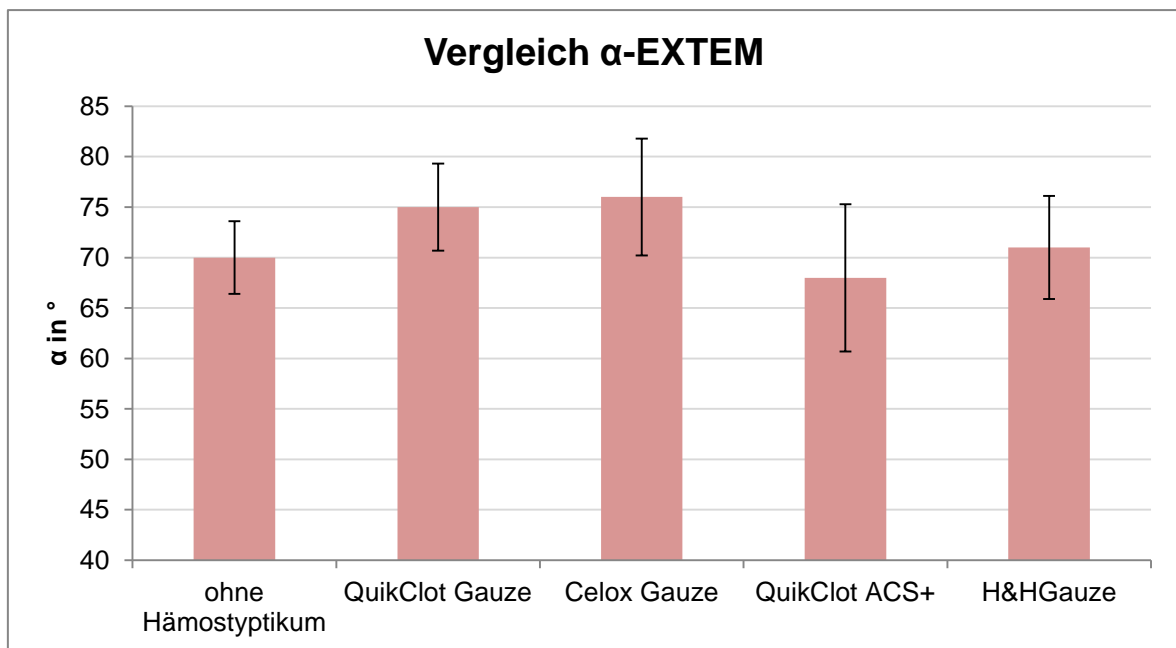


Abb. 27: Vergleich α-EXTEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben in jeder Gruppe). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber ohne Hämostyptikum, p<0,05.

(α: Alpha Winkel, EXTEM: extrinsisch aktivierte Thrombelastometrie)

QCG (60 mm, +/- 4,9 mm), H&HG (60 mm, +/- 5,9 mm) und CelG (59 mm, +/- 6,0 mm) führten zu nicht signifikant höheren MCF Werten gegenüber dem Normalwert ohne Hämostyptikum (55 mm, +/- 3,2 mm) in der EXTEM Messung. Der Mittelwert von QC ACS+ (55 mm, +/- 7,7 mm) war dem ohne Hämostyptikazusatz gleich. (Abb. 28).

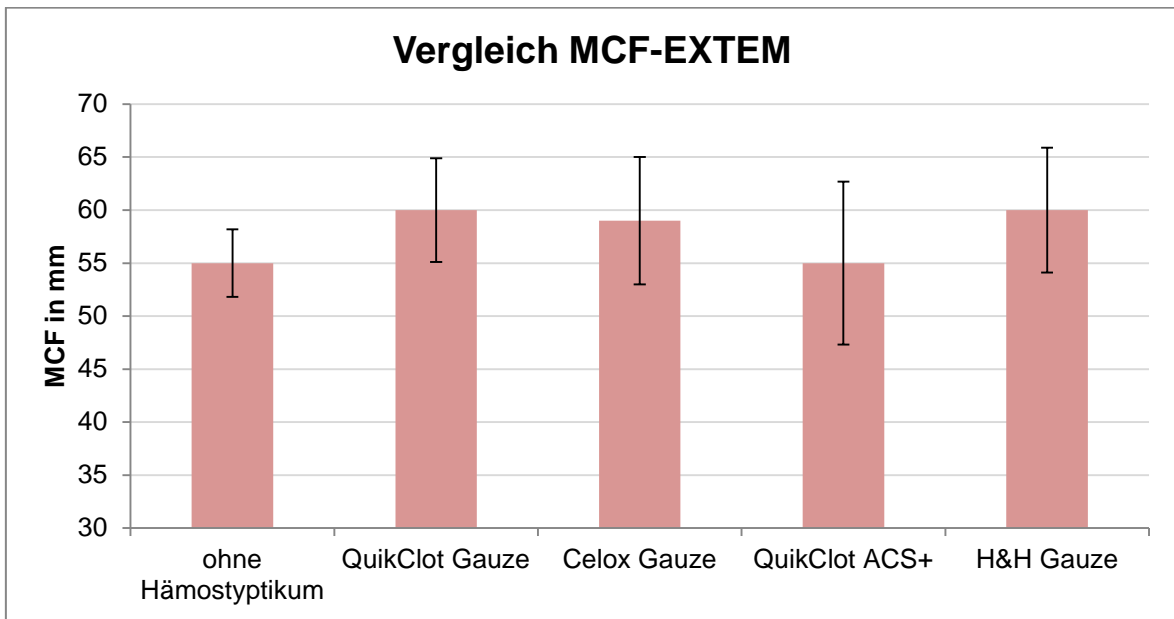


Abb. 28: Vergleich MCF-EXTEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben in jeder Gruppe). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber ohne Hämostyptikum, $p < 0,05$.

(MCF: Maximum Clot Firmness, EXTEM: extrinsisch aktivierte Thrombelastometrie)

Alle Hämostyptika erzeugten signifikant beständigere Thromben in der EXTEM Messung. Die stabilsten Gerinnsel mit einem LI 45 Mittelwert von 95 %, +/- 2,2 % entstanden unter dem Einfluss von CelG, gefolgt von QCG (94 %, +/- 1,7 %) und H&HG (93 %, +/- 2,0 %). Der Mittelwert von QC ACS+ (92 %, +/- 2,8 %) hatte den geringsten Unterschied zum Normalwert ohne Hämostyptikum (89 %, +/- 1,8 %) (Abb. 29).

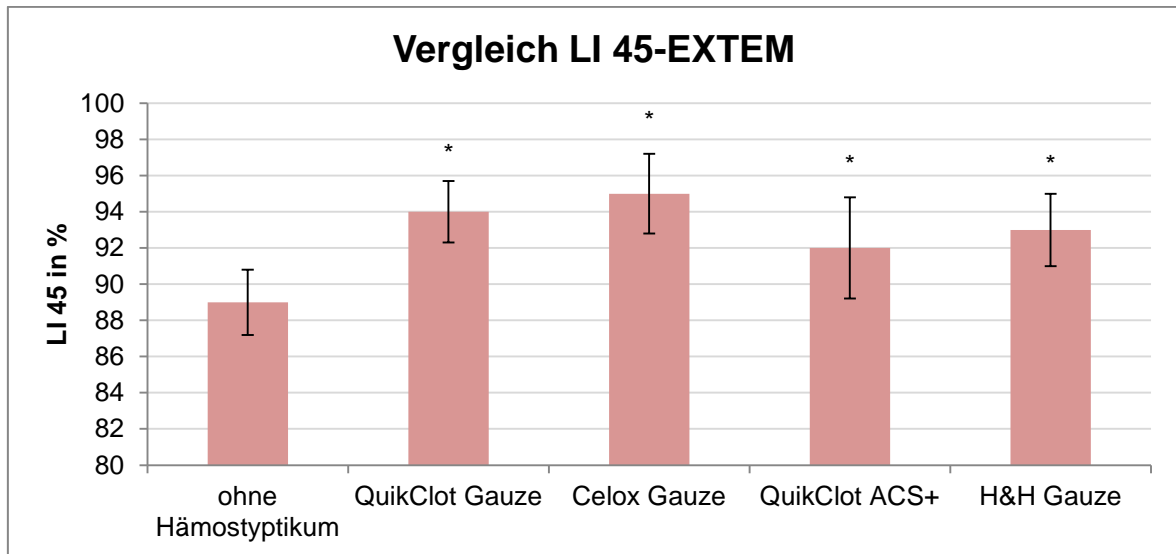


Abb. 29: Vergleich LI 45-EXTEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben in jeder Gruppe). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber ohne Hämostyptikum, p<0,05.

(LI 45: Lyse Index 45 min nach Beginn der Gerinnung, EXTEM: extrinsisch aktivierte Thrombelastometrie)

3.2.3. INTEM Messung

Der CT-Mittelwert der INTEM Messung war bei allen getesteten Hämostyptika kleiner als bei der Vergleichsgruppe (176 s, +/- 22,4 s). Die einzige signifikante Veränderung wurde durch QCG (128 s, +/- 18,7 s) hervorgerufen. H&HG (146 s, +/- 11,8 s) und CelG (150 s, +/- 33,4 s) führten zu geringeren Veränderungen, QC ACS+ (164 s, +/- 23,2 s) zeigte den kleinsten Unterschied zum Normalwert ohne Hämostyptikum (Abb. 30).

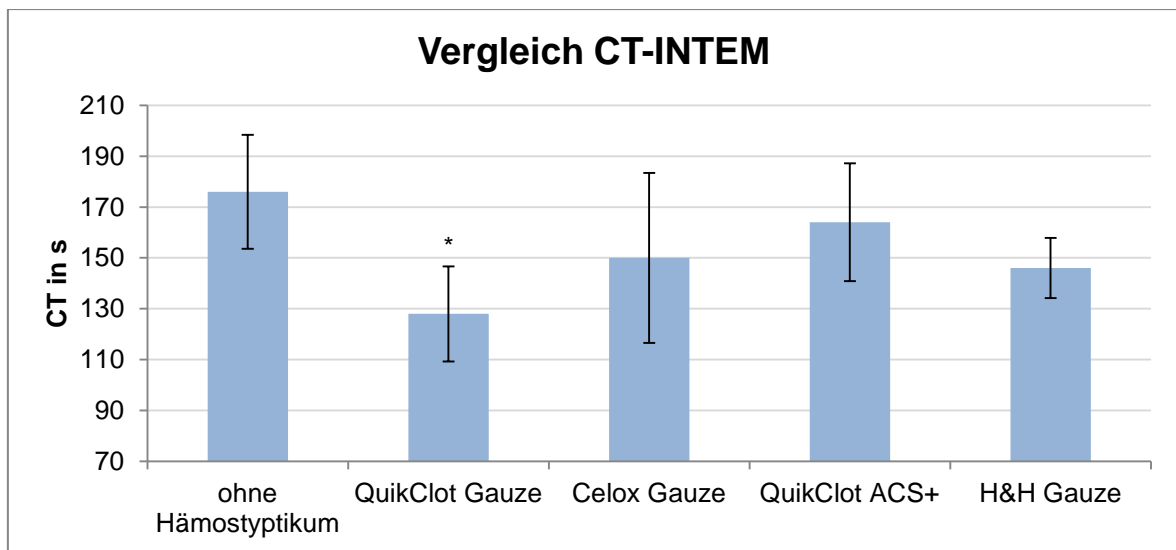


Abb. 30: Vergleich CT-INTEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben in jeder Gruppe). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber ohne Hämostyptikum, $p < 0,05$.

(CT: Clotting Time, INTEM: intrinsisch aktivierte Thrombelastometrie)

Der Zusatz von Hämostyptika führte zu keinen signifikanten Veränderungen der CFT, als Parameter Geschwindigkeit der Gerinnungsbildung bei der intrinsischen Gerinnungsaktivierung. QCG (82 s, +/- 18,3 s) und CelG (82 s, +/- 16,0 s) hatten den gleichen Mittelwert wie die Messung ohne Hämostyptikum (82 s, +/- 12,7 s), den größten Unterschied zeigte H&HG (75 s, +/- 12,2 s), gefolgt von QC ACS+ (79 s, +/- 20,1 s) (Abb. 31).

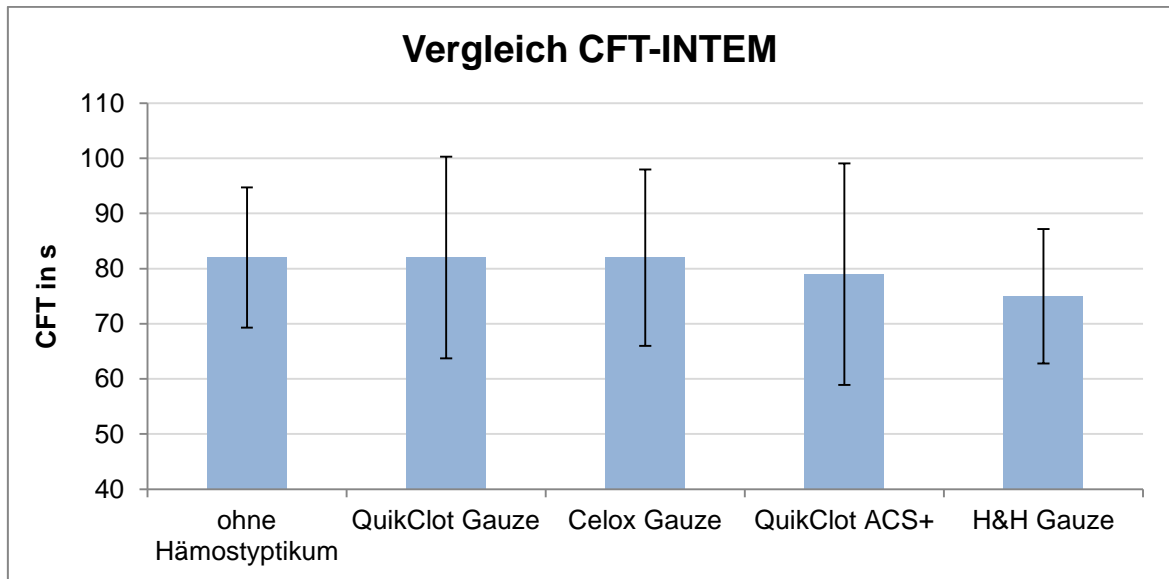


Abb. 31: Vergleich CFT-INTEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben in jeder Gruppe). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber ohne Hämostyptikum, $p < 0,05$. (CFT: Clot Formation Time, INTEM: intrinsisch aktivierte Thrombelastometrie)

Der Mittelwert des Steigungswinkels alpha wurde von keinem Hämostyptikum während der INTEM Messung signifikant verändert. Die größte Änderung zeigte H&HG (76°, +/- 2,4°), gefolgt von QC ACS+ (75°, +/- 4,0°) und CelG (75°, +/- 4,3°). CQG (74°, +/- 3,5°) hatte den gleichen Wert wie die Messung ohne Hämostyptikum (74°, +/- 2,5°) (Abb. 32).

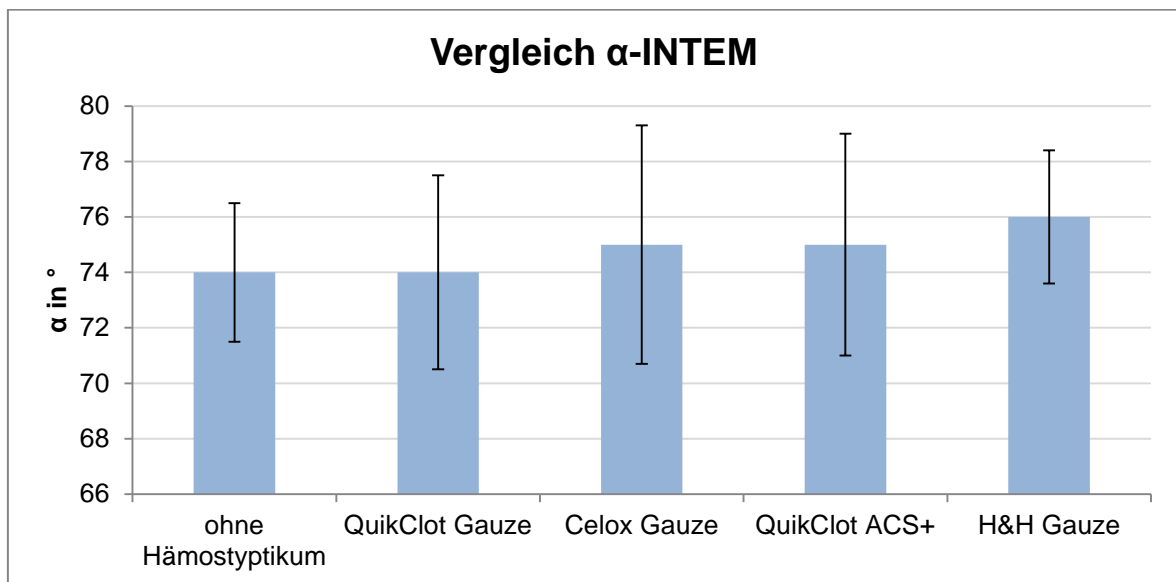


Abb. 32: Vergleich α -INTEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben in jeder Gruppe). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber ohne Hämostyptikum, $p < 0,05$.

(α : Alpha Winkel, INTEM: intrinsisch aktivierte Thrombelastometrie)

CelG (59 mm, +/- 4,5 mm), QCG (58 mm, +/- 4,5 mm) und H&HG (58 mm, +/- 4,3 mm) hatten bei der INTEM Messung signifikant höhere MCF-Mittelwerte und somit stabilere Gerinnsel, als die Vergleichsgruppe ohne Hämostyptikum (52 mm, +/- 3,5 mm). QC ACS+ (56 mm, +/- 3,5 mm) hatte als einziges keinen signifikanten Unterschied zum Normalwert ohne Hämostyptikum (Abb. 33).

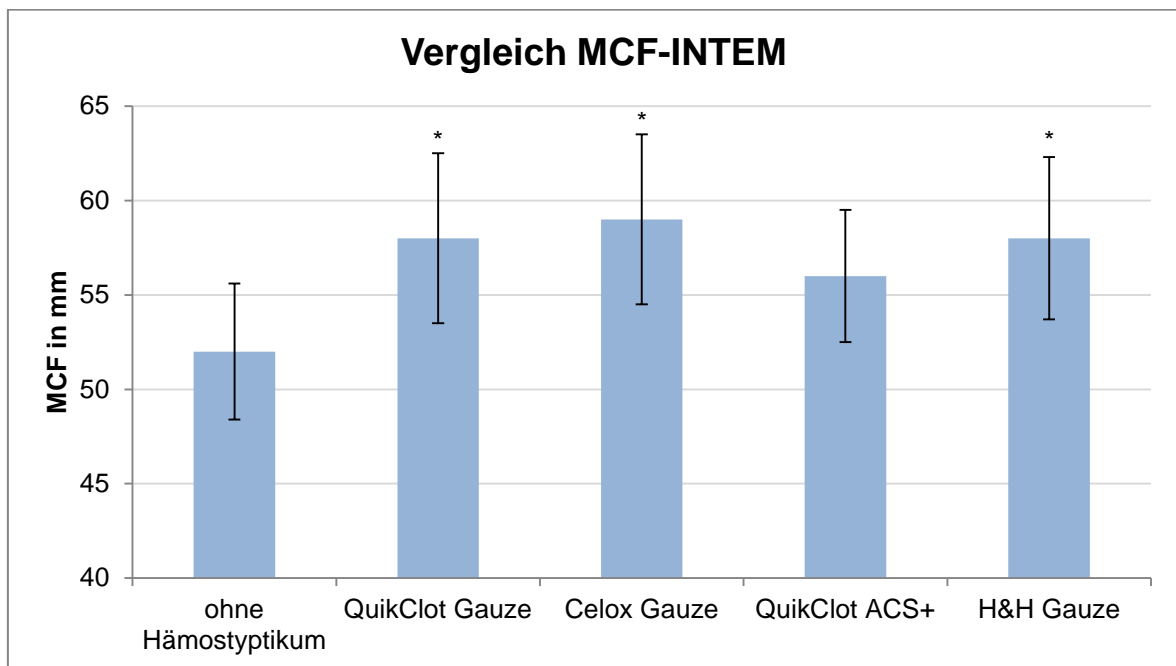


Abb. 33: Vergleich MCF-INTEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben in jeder Gruppe). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber ohne Hämostyptikum, $p < 0,05$. (MCF: Maximum Clot Firmness, INTEM: intrinsisch aktivierte Thrombelastometrie)

Mit einem LI 45 von 93 % im Mittel unterschieden sich CelG (93 %, +/- 1,7 %), QCG (93 %, +/- 3 %) und H&HG (93 %, +/- 2,1 %) signifikant vom Mittelwert ohne Hämostyptikum (89 %, +/- 3,2 %). QC ACS+ hatte mit einem Mittelwert von 91 %, +/- 2,9 % den einzigen nicht signifikanten Unterschied zur Vergleichsgruppe (Abb. 34).

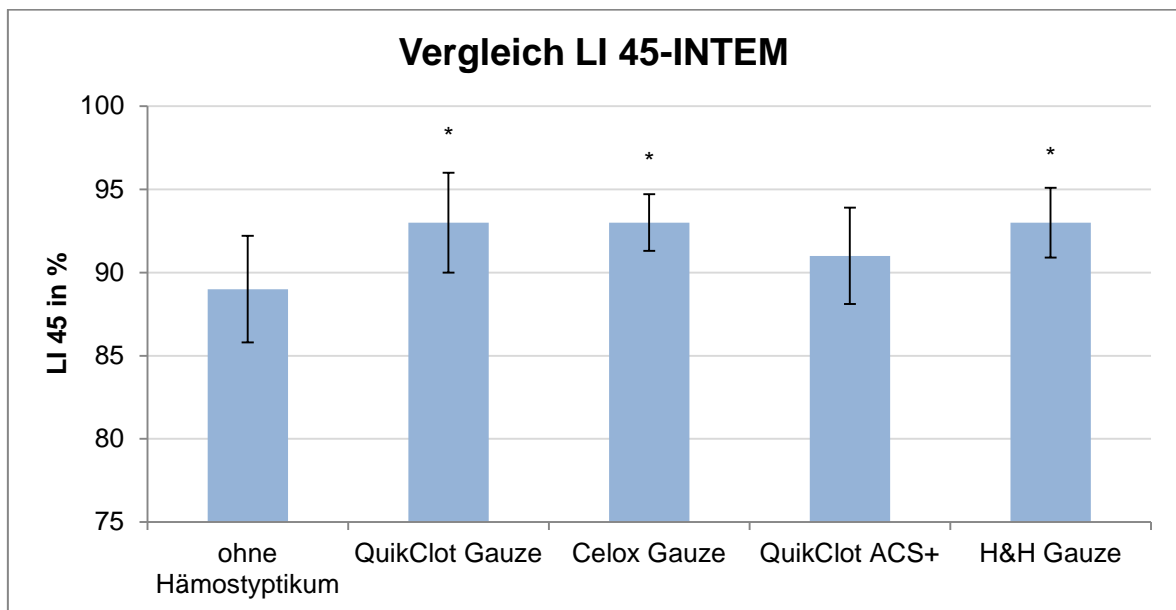


Abb. 34: Vergleich LI 45-INTEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben in jeder Gruppe). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber ohne Hämostyptikum, $p < 0,05$.

(LI 45: Lyse Index 45 min nach Beginn der Gerinnung, INTEM: intrinsisch aktivierte Thrombelastometrie)

3.2.4. FIBTEM Messung

Der CT-Mittelwert der FIBTEM Messung konnte nur durch QCG signifikant auf 24 s, +/- 5,5 s verkürzt werden. H&HG (34 s, +/- 8,9 s), gefolgt von CelG (35 s, +/- 8,3 s) hatten kürzere CT-Mittelwerte gegenüber der Vergleichsgruppe (43 s, +/- 7,0 s) aber keinen signifikanten Unterschied. QC ACS+ (48 s, 11,8 s) hatte im Mittel eine größere CFT im Vergleich zum Wert ohne Hämostyptikum (Abb. 35).

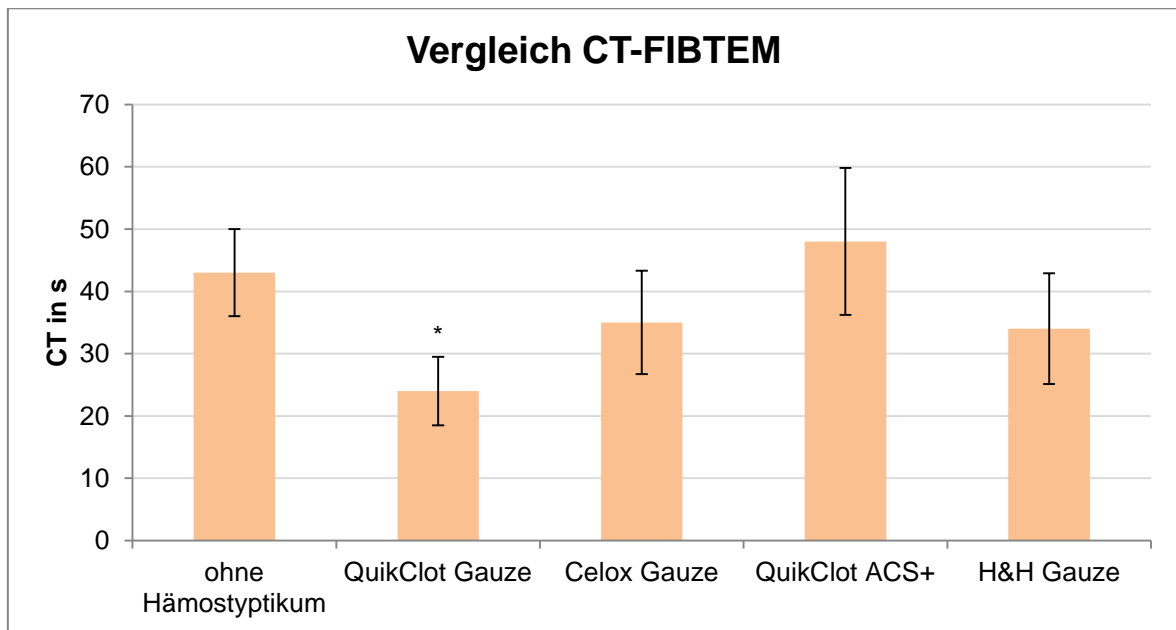


Abb. 35: Vergleich CT-FIBTEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben in jeder Gruppe). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber ohne Hämostyptikum, $p < 0,05$.

(CT: Clotting Time, FIBTEM: Fibrin abhängige Thrombelastometrie)

Keines der getesteten Hämostyptika führte zu einer signifikanten Veränderung des alpha Winkels bei der FIBTEM Messung. QCG (78°, +/- 4,8°), gefolgt von CelG (76°, +/- 8,8°) und H&HG (70°, +/- 8,9°) hatten einen steileren Anstiegswinkel im Vergleich zur Messung ohne Hämostyptikum (63°, +/- 14,8°). QC ACS + hatte mit 55°, +/- 19,8° einen kleineren Anstiegswinkel als der Wert ohne Hämostyptikum (Abb. 36).

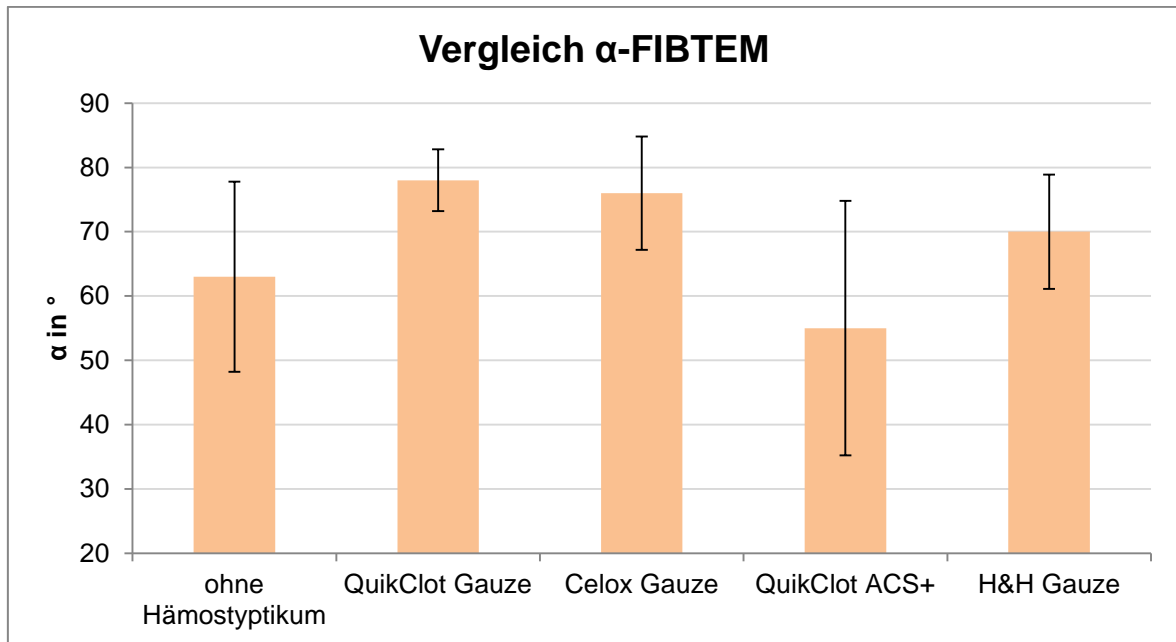


Abb. 36: Vergleich α -FIBTEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben in jeder Gruppe). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber ohne Hämostyptikum, $p < 0,05$. (α : Alpha Winkel, FIBTEM: Fibrin abhängige Thrombelastometrie)

Alle Hämostyptika führten im Mittel zu höheren MCF Werten bei der FIBTEM Messung (Abb. 32). Bei CelG (20 mm, +/- 6,2 mm) und QCG (19 mm, +/- 4,5 mm) waren die Unterschiede signifikant im Sinne einer höheren Gerinnselfestigkeit. Unter dem Einfluss von H&HG (17 mm, +/- 4,0 mm), gefolgt von QC ACS+ (12 mm, +/- 4,4 mm) zeigten sich nicht signifikant größere Werte für MCF im Vergleich zum Wert ohne Hämostyptikum (11 mm, +/- 2,9 mm) (Abb. 37).

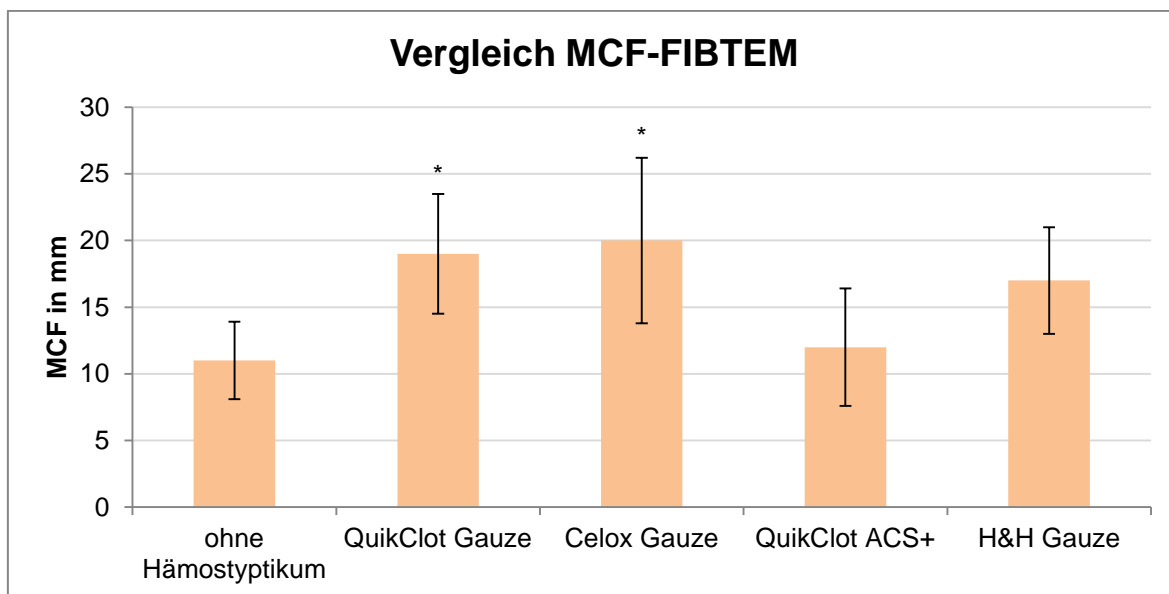


Abb. 37: Vergleich MCF-FIBTEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben in jeder Gruppe). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber ohne Hämostyptikum, $p < 0,05$. (MCF: Maximum Clot Firmness, FIBTEM: Fibrin abhängige Thrombelastometrie)

Alle Hämostyptika erzeugten unter Thrombozyteninhibition in der FIBTEM Messung signifikant stabilere Blutgerinnsel. Die geringste Lyse wurde unter Einfluss von CelG (100 %, +/- 0,4 %), gefolgt von QC ACS+ (99 %, +/- 2,4 %), QCG (99 %, +/- 3,2 %) und H&HG (98 %, +/- 2,3 %) im Vergleich zum Normalwert ohne Hämostyptikum (90 %, +/- 7,1 %) gemessen (Abb. 38).

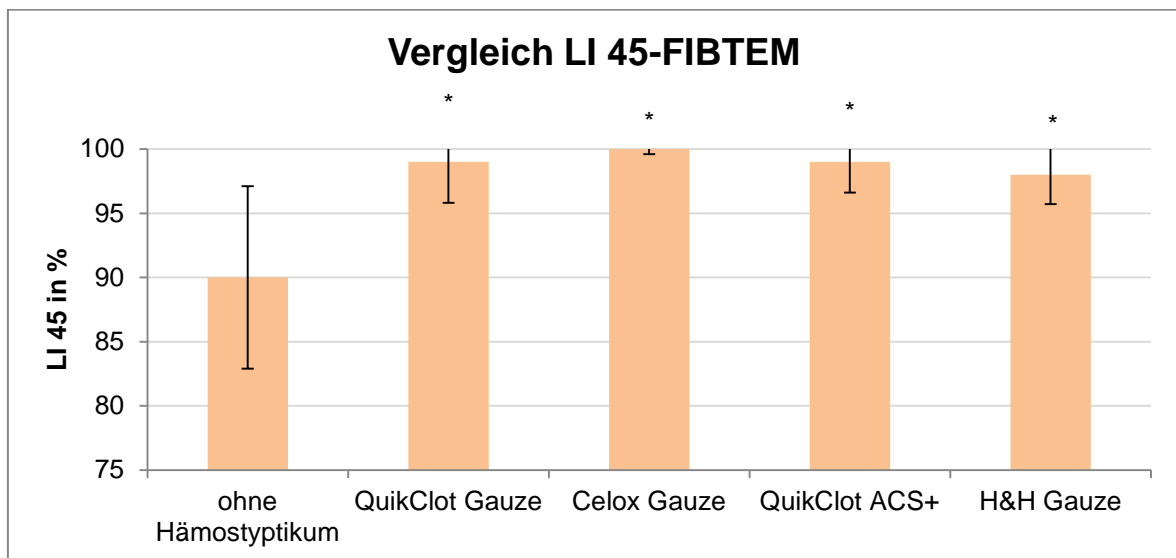


Abb. 38: Vergleich LI 45-FIBTEM dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung (n = 8 Proben in jeder Gruppe). Säulen geben den Mittelwert an. Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung. * signifikant unterschiedlich gegenüber ohne Hämostyptikum, p<0,05.

(LI 45: Lyse Index 45 min nach Beginn der Gerinnung, FIBTEM: Fibrin abhängige Thrombelastometrie)

3.2.5. Zusammenfassung der Unterschiede durch Hämostyptikazusatz

Die meisten signifikanten Veränderungen aller Hämostyptika gab es bei der NATEM Messreihe mit insgesamt 9. Die INTEM- und FIBTEM Messreihe hatten in Summe jeweils 7 signifikante Veränderungen. Bei der EXTEM Messreihe gab es mit 6 die wenigsten signifikanten Unterschiede (Tab. 4).

Tab. 4: Anzahl der signifikant unterschiedlichen Messungen mit Hämostyptikazusatz (n = 8 Proben in jeder Gruppe), verglichen zu dem Wert ohne Hämostyptikum (n = 8 Proben), aufgeschlüsselt nach Messparametern und Reagenzien.

(CT: Clotting Time, α : Alpha Winkel, MCF: Maximum Clot Firmness, LI 45: Lyse Index 45 Minuten nach Beginn der Gerinnung, NATEM: nicht aktivierte Thrombelastometrie, EXTEM: extrinsisch aktivierte Thrombelastometrie, INTEM: intrinsisch aktivierte Thrombelastometrie, FIBTEM: Fibrin abhängige Thrombelastometrie)

	NATEM	EXTEM	INTEM	FIBTEM
CT (s)	3	2	1	1
α (°)	1	0	0	0
MCF (mm)	3	0	3	2
LI 45 (%)	2	4	3	4
Summe	9	6	7	7

In Tabelle 5 ist die Anzahl signifikanter Unterschiede der einzelnen Hämostyptika aufgeteilt nach den Messparametern zu sehen. QCG hatte die höchste Anzahl signifikanter Unterschiede (10) zu den Werten ohne hämostyptischen Zusatz, gefolgt von CelG (9) und H&HG (8), die wenigsten signifikanten Unterschiede hatte QC ACS+ (2) (Tab. 5).

Tab. 5: Anzahl der signifikant unterschiedlichen Messungen mit Hämostyptikazusatz (NATEM-, EXTEM-, INTEM-, FIBTEM Messung), verglichen zum Wert ohne hämostyptischen Zusatz, aufgeschlüsselt nach Messparametern und Hämostyptika (n = 8 Proben in jeder Gruppe).

(CT: Clotting Time, α : Alpha Winkel, MCF: Maximum Clot Firmness, LI 45: Lyse Index 45 Minuten nach Beginn der Gerinnung, NATEM: nicht aktivierte Thrombelastometrie, EXTEM: extrinsisch aktivierte Thrombelastometrie, INTEM: intrinsisch aktivierte Thrombelastometrie, FIBTEM: Fibrin abhängige Thrombelastometrie)

	QuikClot Gauze	Celox Gauze	QuikClot ACS+	H&H Gauze
CT (s)	3	2	0	2
α (°)	1	0	0	0
MCF (mm)	3	3	0	2
LI 45 (%)	3	4	2	4
Summe	10	9	2	8

QCG beeinflusste am meisten die Kinetik der Blutgerinnung im Sinne eines schnelleren Beginns der Gerinnelbildung (CT) und einer höheren Geschwindigkeit der Gerinnelbildung (α). Außerdem wurden unter QCG stabilere Gerinnel (MCF) gebildet. Unter dem Einfluss von CelG kam es zur Bildung der stabilsten und beständigsten Gerinnel (MCF, LI 45), der Einfluss auf die Gerinnungskinetik (CT, α) war weniger stark als unter QCG. Die H&HG beeinflusste vor allem den LI 45, es wurden beständigere Gerinnel gebildet. QC ACS+ hatte lediglich 2 signifikante Unterschiede zur Vergleichsgruppe, beide im Bereich der LI 45. QC ACS+ hatte bei allen Parametern das schwächste hämostyptische Potential (Tab. 5).

Zusätzlich erfolgte ein deskriptiver Vergleich bei der natürlichen Gerinnung (NATEM Messung) ohne Einfluss von spezifischen Aktivatoren (Tab. 6). Die größten Unterschiede im Sinne einer aktiveren Gerinnung wurden unter QCG erreicht, gefolgt von CelG und H&HG. QC ACS+ hatte auch hier das schwächste hämostyptische Potential (Tab. 6).

QCG beeinflusste am meisten die Gerinnungskinetik (CT und α) und die Festigkeit der Blutgerinnel (MCF). CelG hatte den größten Einfluss auf die Beständigkeit der Gerinnel (LI 45) (Tab. 6).

Tab. 6: Deskriptiver Vergleich der menschlichen nativen Gerinnung (ohne Hämostyptikum) zur Gerinnung unter hämostyptischem Zusatz von QuikClot Gauze, Celox Gauze, QuikClot ACS+ und H&H Gauze anhand der Größe der Unterschiede der Mittelwerte in der NATEM Messung (n = 8 Proben in jeder Gruppe). Rangfolge: +(1) kleinster Unterschied zum Blut ohne Zusatz, ++++(4) größter Unterschied zum Blut ohne Zusatz.

(CT: Clotting Time, α : Alpha Winkel, MCF: Maximum Clot Firmness, LI 45: Lyse Index 45 Minuten nach Beginn der Gerinnung, NATEM: nicht aktivierte Thrombelastometrie)

NATEM	Blut ohne Zusatz	QuikClot Gauze	Celox Gauze	QuikClot ACS+	H&H Gauze
CT (s)	0	++++ (4)	++ (2)	+ (1)	+++ (3)
α (°)	0	++++ (4)	+ (1)	+++ (3)	+ (1)
MCF (mm)	0	++++ (4)	+++ (3)	+ (1)	++ (2)
LI 45 (%)	0	+ (1)	++++ (4)	++ (2)	+++ (3)
Summe	0	13	10	7	9

4. Diskussion

4.1. Vergleich humane Blutgerinnung versus Tierspezies

Ziel dieser Untersuchung war es herauszufinden, welches der von uns getesteten Tiermodelle der menschlichen Blutgerinnung am ähnlichsten ist und sich somit für weitere *in-vivo* Studien zur Testung von Hämostyptika am besten eignet.

Wir konnten zeigen, dass der Beagle-Hund gefolgt vom Merino-Schaf hämostaseologisch dem Menschen am ähnlichsten ist (Abb. 5-19, S. 22, Tab. 2 und 3, S. 38).

Gerinnungsvergleich von Tiermodellen mit Standard-Labortests

Bisherige Studien zum Vergleich der Gerinnung von Mensch und Tier wurden überwiegend an Haustieren und mit Standard-Labortests durchgeführt. Für die Mehrzahl der Säugetiere existieren somit, wenn überhaupt, nur zufällige Angaben.⁶⁵ Meist wurde die Zusammensetzung und Aktivität gerinnungsrelevanter Blutbestandteile und einfache Globaltests wie aPTT und INR (Quick, Prothrombinzeit) untersucht, oftmals jedoch ohne vergleichende Bewertung zum Menschen.^{41, 45, 64, 65} Ein direkter Vergleich dieser Literatur ist durch teilweise geringe Fallzahlen, nicht standardisierte Einheiten, unterschiedliche Gerinnungsaktivatoren und Versuchsbedingungen nur schwer durchzuführen.^{41, 45, 104} Beispielhaft dafür, zeigten sich bei der Analyse der Prothrombinzeit beim Schwein in verschiedenen Arbeitsgruppen niedrigere, ähnliche sowie höhere Werte im Vergleich zum Menschen.^{41, 64, 65, 67, 71, 82, 104} Bezüglich der Prothrombinzeit des Schafblutes ist die Studienlage ebenfalls uneinheitlich. Einige Studien zeigten längere Werte der Prothrombinzeit, andere dem Menschen ähnliche.^{31, 41, 45, 89, 100, 111} Calatzis und Lang gehen von einer guten Übereinstimmung des Quick-Wertes mit der CT-EXTEM und der aPTT mit der CT-INTEM in Menschenblut aus, trotz gewisser Unterschiede der Messsysteme wie verschiedener Aktivatoren oder der Untersuchung von Blutplasma in den

Globaltests und Vollblut bei ROTEM® Analyse.^{13, 60} In unserer Studie zeigte sich weder bei der CT-EXTEM noch bei der CT-INTEM ein signifikanter Unterschied einer Tierspezies zum Menschen. In Einklang dazu ist die aPTT beim Schaf dem Menschen ähnlich beschrieben.^{31, 41, 89, 111} Die aPTT von Schwein, Kaninchen und Hund wurde in der Literatur verkürzt im Vergleich zum Menschen beschrieben, was somit gegen eine Korrelation mit den CT-INTEM Werten unserer Studie bei diesen Spezies spricht.^{41, 44, 45, 64, 65, 67, 82, 104, 107, 110} Bei Raubtieren, zu denen auch der Hund gezählt wird, sind grundsätzlich höhere Aktivitäten an Einzelfaktoren und eine schnellere Gerinnung in Globaltests zu erwarten.⁶⁵ Höhle schloss, anhand gemessener Blutbestandteile und den Globaltests Quick und aPTT, unter der Annahme eines phylogenetisch konservierten Gerinnungssystems, dass das Schaf, gefolgt von Kaninchen, Hund und Schwein, dem Menschen am ähnlichsten ist.⁴¹ Allerdings bewertete er im Vergleich zum Menschen die Gesamtgerinnung des Schafs als abgeschwächt. Die Gesamtgerinnung von Hund, Schwein und Kaninchen wurde als deutlich verstärkt zum Menschen eingestuft. Die Fibrinolyse von Kaninchen und Hund wurde als verstärkt gegenüber dem Menschen beschrieben. Die Fibrinolyse des Schafs wurde als abgeschwächt und die des Schweins als deutlich abgeschwächt eingeordnet.⁴¹ Unsere Messungen ergaben jedoch bei allen Tieren eine verstärkte Gerinnung und abgeschwächte Fibrinolyse, abgesehen vom Schwein, dessen Fibrinolyseeigenschaften dem Menschen ähnlich waren (Tab. 2 und 3). Diese unterschiedlichen Bewertungen können darauf zurückzuführen sein, dass gängige Globaltestes nur bedingt mit viskoelastisch gemessenen Parametern korrelieren.^{21, 55} So konnte Darachtchiv keine akzeptable Korrelation zwischen CT-INTEM und der aPTT bei Patienten unter subtherapeutischer oder therapeutischer Antikoagulation mit Heparin messen.²¹ Bei Patienten unter Therapie mit Marcumar zeigte sich keine Korrelation des Quick-Wertes mit der CT-EXTEM. Nur durch Verwendung spezieller EXTEM-Reagenzien konnte eine mäßige Korrelatation erreicht werden, allerdings nicht hinreichend für eine Marcumareinstellung oder Therapieüberwachung.²¹ Außerdem scheint eine ähnliche Blutzusammensetzung, trotz eines phylogenetisch konservierten Blutgerinnungssystems mit ähnlichen Nukleotid- und Aminosäuresequenzen, nicht zwingend eine vergleichbare

Gerinnung zu garantieren.⁴¹ Es besteht somit die Möglichkeit, dass die Gesamtgerinnung einzelner Spezies bezüglich Aktivität, Kinetik und Stärke deutlich unterschiedlich ablaufen können, trotz einer ähnlichen Blutzusammensetzung und ähnlich ablaufenden Teilaspekten der Gerinnung. Eine Option der ganzheitlichen Analyse der Blutgerinnung von Beginn der Gerinnungsbildung bis zur Fibrinolyse sind die in unserem Versuch angewendeten viskoelastischen Gerinnungsmessungen mittels ROTEM[®].

Gerinnungsvergleich von Tierspezies mit viskoelastischen Gerinnungsmessungen

Durch verschiedene Arbeitsgruppen wurden die von uns gewählten Tierspezies bereits viskoelastisch untersucht, allerdings teilweise nicht mit allen von uns verwendeten Reagenzien, die wichtige Teilaspekte der Gerinnung beleuchten. Somit ist unsere Studie die erste, die die Tierspezies Schwein, Schaf, Kaninchen und Hund gegenüber dem Menschen mit der NATEM-, EXTEM- und INTEM Messung der ROTEM[®] vergleicht.

Vergleich Mensch versus Schwein

Die Arbeitsgruppe um Siller-Matula analysierte Tierblut von 6 Schweinen mittels NATEM Messung der ROTEM[®]. Messparameter waren die CT, CFT, MCF und die maximale Lyse. Das Schweinmodell zeigte ebenso wie in unserer Studie bei allen Messparametern außer der maximalen Lyse signifikante Unterschiede hin zu einer aktiveren Gerinnung im Vergleich zum Menschen.⁸⁹ Bezüglich der Fibrinolyse zeigte sich das Schwein in unserer Studie am ähnlichsten zum Menschen (siehe Tab. 2 und 3, S. 38) und steht im Einklang mit den Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen.^{67, 71, 89}

Bei der EXTEM Messung hatte das Schwein bei allen Messparametern außer der CT signifikante Unterschiede im Sinne einer aktiveren Gerinnung zu den menschlichen Werten. Verschiedene Arbeitsgruppen analysierten die Blutgerinnung von Schweinen mittels EXTEM Messung der ROTEM[®]. Die

Gerinnung zeigte sich auch in diesen Untersuchungen beim Schwein aktiver als beim Menschen, vor allem bezüglich einer kürzeren CFT, einem höheren Winkel alpha und einer größeren MCF.^{25, 36, 104} Kessler und Kollegen verglichen ebenfalls Blut von Schwein und Mensch mit der EXTEM Messung der ROTEM[®], allerdings mit dem Ergebnis, dass Schweineblut nicht hyperkoagulatorisch im Vergleich zum Menschen sei.⁴⁸ Die Ergebnisse werden von Kessler et al. mit dem deutlich älteren (61-81 Jahre) und zum Abnahmezeitpunkt in Intubationsnarkose befindlichen Probandenkollektiv begründet. Eine in gleicher Studie durchgeführte Vergleichsmessung in einem jüngeren (25-45 Jahre), männlichen, nicht in Narkose befindlichem Probandenkollektiv ergab wesentlich längere Werte für CT und CFT und geringere für MCF. Im Vergleich zu diesen humanen Referenzwerten war die CFT beim Schwein signifikant kürzer und die MCF signifikant größer und stimmt somit mit unseren Ergebnissen überein. Zusätzlich könnten Verdünnungseffekte durch Volumensubstitution bei den Schweinen und Rasseunterschiede für Unterschiede bei den gemessenen Parametern verantwortlich sein.⁴⁸

Die in unserer Studie durchgeführte INTEM Messung mit Schweineblut zeigte signifikante Unterschiede bei den Parametern CFT, alpha und MCF im Vergleich zum Menschen. Der LI 45 sowie die CT waren dem Menschen ähnlich. Die Arbeitsgruppe um Velik-Salchner verglich Blut mit der INTEM Messung der ROTEM[®] von 58 Schweinen mit menschlichem Blut, jedoch ohne den LI zu betrachten. Hierbei wies die CT ähnliche Werte zwischen Schwein und Mensch auf, beim Schwein war korrespondierend zu unseren Werten die CFT niedriger, der alpha Winkel steiler und die MCF größer als beim Menschen, was für eine beschleunigte intrinsische Gerinnungskaskade beim Schwein spricht.¹⁰⁴

In allen drei Messreihen hatte das Schwein signifikante Unterschiede hin zu einer höheren Geschwindigkeit der Gerinnselbildung (CFT, α) und zur Bildung stabilerer Thromben (MCF). Die in einigen Studien gemessenen höheren Fibrinogen- und Thrombozytenwerte beim Schwein im Vergleich zum Menschen können die in allen Messreihen signifikant größeren MCF Werte erklären.^{36, 46, 55, 67, 93, 104}

Für Versuche zur Analyse der Gerinnselbildung unter Hämostyptikaeinfluss, eignen sich Schweine gemäß unseren Daten aufgrund ihrer vergleichsweise

schnelleren und stabileren Gerinnungsbildung weniger. Die Ergebnisse unserer Studie bestätigen die bereits postulierte Eignung von Schweinen zur Erforschung des Fibrinolyse-Systems, aufgrund der Ähnlichkeit des LI zum Menschen.^{66, 69, 89, 102}

Vergleich Mensch versus Schaf

Siller-Matula et al. analysierten Blut der Spezies Schaf im Vergleich zum Menschen mit der NATEM Messung der ROTEM[®].⁸⁹ Die Mittelwerte der Schafblutanalyse unserer Studie für CT, CFT und MCF stimmen nahezu mit den Medianwerten für Schafblut von Siller-Matula und Kollegen überein. Die Gerinnung der Spezies Schaf zeigte in beiden Studien eine höhere Gerinnungskinetik und die Bildung stabilerer Thromben, verglichen mit den menschlichen Werten unserer Studie. Im Gegensatz zu unserer Studie detektierten Siller-Matula keinen signifikanten Unterschied bezüglich der CT und CFT zum Menschen. Ursache hierfür sind andere Referenzwerte im Sinne einer schnelleren und stärkeren Gerinnungsaktivierung des menschlichen Probandenkollektivs von Siller-Matula im Vergleich zu den von uns gemessenen Referenzwerten. Zu den möglichen Ursachen hierfür siehe unter 4.3. *Probanden* (S. 80). Der LI war bei Siller-Matula, wie in unserer Studie, signifikant höher im Vergleich zum Menschen.⁸⁹ Dies steht mit der von Höhle et al. beschriebenen verminderten Fibrinolyse beim Schaf im Vergleich zum Menschen im Einklang.⁴¹

Bei der EXTEM Messung unserer Studie hatte die Spezies Schaf einen signifikanten Unterschied zum Menschen bei den Messparametern MCF und LI 45. Die Gerinnungskinetik (CT, CFT und alpha) war zwischen Mensch und Schaf ähnlich (Abb. 10-12). Ein direkter Vergleich mit Ergebnissen anderer Studien ist nicht möglich, da bisher keine Untersuchungen von Schafblut mit der EXTEM Messung der ROTEM[®] vorliegen. Die Arbeitsgruppe um Siller-Matula untersuchte Blut von Mensch und Schaf anhand des extrinsisch aktivierten endogenen Thrombinpotentials. Hierbei zeigte sich beim Schaf als einziger von Siller-Matula getesteten Spezies kein signifikanter Unterschied zum Menschen. Dies stützt die

Ähnlichkeit der in unserer Studie gemessenen extrinsischen Gerinnungskinetik des Schafs zum Menschen.⁸⁹

Hinsichtlich der INTEM Messreihe unterschieden sich bei unseren Messungen die MCF und der LI 45 Wert im Sinne stärkerer und beständigerer Thromben gegenüber dem Menschen. In der bisherigen Literatur gibt es keine Analysen von Schafblut mittels INTEM Messung der ROTEM[®]. Mit der TEG wurde bereits Blut von 3 Schafen viskoelastisch unter Verwendung des intrinsischen Gerinnungsaktivators Kaolin analysiert.⁴³ Ein direkter Vergleich der TEG Messwerte mit unseren Werten ist aufgrund der anderen Messmethode nicht vollumfänglich möglich.^{85, 103} Es wurde ebenfalls eine niedrige Lyse des Gerinnsels beim Schaf festgestellt. Im Gegensatz zu unseren Ergebnissen wurden bei Jankun und Kollegen ein früherer Beginn und eine höhere Geschwindigkeit der Gerinnelbildung beim Schaf gemessen. Ursache ist möglicherweise die intrinsische Gerinnungsaktivierung mit Kaolin im Gegensatz zu dem in unserer Studie verwendeten in-tem[®] Reagenz (Thromboplastin-Phospholipid).⁴³ Für die signifikant höheren MCF Werte der NATEM, INTEM und EXTEM Messung dieser Studie, sowie auch in den Messungen anderer Arbeitsgruppen, sind die höheren Thrombozytenzahlen des Schafs im Vergleich zum Menschen wahrscheinlich ursächlich.^{31, 55, 89, 93, 100, 111}

Vergleich Mensch versus Kaninchen

Siller-Matula analysierten Kaninchenblut mit der NATEM Messung der ROTEM[®]. Die CT des Kaninchenblutes war wie in unserer Studie signifikant kürzer im Vergleich zum Menschen. Die MCF zeigte in unserer Studie einen signifikanten Unterschied hin zu stabileren Thromben im Vergleich zum Menschen, Siller-Matula hingegen errechnete keinen signifikanten Unterschied zum Menschen.⁸⁹ Für eine Ähnlichkeit der MCF zwischen Mensch und Kaninchen sprechen die vergleichbaren Thrombozytenzahlen zwischen Mensch und Kaninchen.^{55, 89, 93} Ursache für die unterschiedliche MCF bei Siller-Matula und unseren Werten können zum einen in dem sehr hohen Range, zum anderen in den anderen

Referenzwerten des menschlichen Probandenkollektivs bei Siller-Matula begründet sein (siehe 4.3. *Probanden*, S. 80).⁸⁹ Das Kaninchen hatte bei Siller-Matula und in unserer Studie signifikant beständigere Thromben im Vergleich zum Menschen, was für eine weniger aktive Fibrinolyse spricht.⁸⁹ Im Gegensatz dazu bezeichnete Höhle anhand von Faktorenkonzentrationen die Fibrinolyse beim Kaninchen deutlich verstärkt im Vergleich zum Menschen.⁴¹ Zur Analyse und Diagnostik des komplexen Ablaufs des Fibrinolyse-Systems sind viskoelastische Tests wie TEG und ROTEM[®] jedoch als Gold-Standard anzusehen und daher besser als Einzelfaktormessungen geeignet, sodass von einer geringeren Fibrinolyse beim Kaninchen ausgegangen werden kann.^{60, 63, 89}

Das Kaninchen hatte in unserer Studie signifikante Unterschiede bei der EXTEM Messung bezüglich CFT, alpha Winkel, MCF und dem LI 45 Wert im Sinne einer aktiveren Gerinnung im Vergleich zum Menschen, nur die CT war dem Menschen ähnlich. In der Literatur sind bisher keine Analysen der Blutgerinnung von Kaninchen mit der EXTEM Messung der ROTEM[®] beschrieben.

Die INTEM Messung des Kaninchens zeigte, wie bei der EXTEM Messung, bei allen Parametern außer der CT einen signifikanten Unterschied hin zu einer aktiveren Gerinnung im Vergleich zum Menschen. In der Literatur existieren bisher keine weiteren Analysen der Kaninchenblutgerinnung mit der INTEM Messung der ROTEM[®]. Durch Hinzugabe von Kaolin, als Aktivator der intrinsischen Gerinnung wurde durch Jankun und Kollegen Blut von 3 Kaninchen mittels TEG analysiert.⁴³ Das Kaninchen zeigte im Gegensatz zu unseren Werten tendenziell einen schnelleren Beginn der Gerinnselbildung, sowie eine minimal schnellere Geschwindigkeit der Gerinnselbildung im Vergleich zum Menschen. Bezüglich der Lyse zeigten sich ähnliche Ergebnisse wie in unserer Studie hin zu stabileren Thromben beim Kaninchen.⁴³ Ein direkter Vergleich der TEG Messwerte mit unseren ROTEM[®] Werten ist aber methodenbedingt nicht vollumfänglich möglich.^{85, 103}

Eine geringere Fibrinolyseaktivität beim Kaninchen im Vergleich zum Menschen erscheint somit insgesamt sehr wahrscheinlich, ebenso wie eine schwach bis deutlich höhere Aktivität der intrinsischen Gerinnung.

Vergleich Mensch versus Hund

Bei der NATEM Messung zeigte die Spezies Hund bei allen in unserer Studie erhobenen Parametern einen signifikanten Unterschied im Sinne einer aktiveren Gerinnung zum Menschen. Smith und Kollegen analysierten Blut von Hunden 30 min nach der Blutentnahme mit der NATEM-, EXTEM- und INTEM Messung der ROTEM[®]. Messparameter waren die CT, CFT, Anstiegswinkel alpha und MCF. Es wurden die dazugehörigen Referenzbereiche in Form von 95 % Konfidenzintervallen ermittelt.⁹¹ Die Mittelwerte der von uns durchgeführten NATEM-, EXTEM- und INTEM Messung beim Hund liegen alle innerhalb dieser Referenzbereiche. Die gesteigerte Gerinnungsaktivität bei der NATEM Messung im Vergleich zum Menschen kann teilweise durch eine stärkere *ex-vivo* Kontaktaktivierung während und nach der Probengewinnung beim Hund im Vergleich zum Menschen begründet werden (siehe Abb. 5-9, S. 22, sowie unter 4.3. *Blutentnahme und Lagerung*, S. 78).⁹¹

Bezüglich der Gerinnungskinetik und der Gerinnselstärke gab es bei der EXTEM Messung keine signifikanten Unterschiede zum Menschen. CFT und Anstiegswinkel alpha waren bei der INTEM Messung unserer Studie signifikant im Sinne einer geringeren Geschwindigkeit der Gerinnselbildung im Vergleich zum Menschen verändert. Bei der EXTEM- und INTEM Messung zeigte der Hund somit größere Ähnlichkeit zum Menschen im Vergleich zur NATEM Messung. Dies kann durch eine stärkere *ex-vivo* Kontaktaktivierung des Hundes im Vergleich zum Menschen erklärt werden, die sich besonders bei der NATEM Messung bemerkbar macht. Durch Hinzugabe von starken Gerinnungsaktivatoren, wie bei der EXTEM- und INTEM Messung kommt es zu einer stärkeren Gerinnungsaktivierung im Vergleich zur NATEM Messung, sodass der Effekt der *ex-vivo* Kontaktaktivierung überlagert wird (siehe 4.3.).⁹¹

Bei der EXTEM- und INTEM Messung zeigte der Hund dem Menschen ähnliche MCF Werte. Ursache dafür ist vermutlich die Ähnlichkeit der Thrombozytenzahl zwischen Mensch und Hund.^{44, 46, 55, 93, 107, 110}

Der Lyseindex 45 war in allen Messreihen (NATEM, EXTEM, INTEM) signifikant unterschiedlich zum Menschen im Sinne einer geringeren Lyseaktivität. Höhle und

Kollegen beschrieben die Fibrinolyse beim Hund anhand verschiedener Gerinnungsfaktorenaktivitäten als geringfügig aktiver als beim Menschen, was unseren Ergebnissen entgegensteht.⁴¹ Gold-Standard zur Diagnostik des Fibrinolyse-Systems sind allerdings viskoelastische Tests, wie beispielsweise die ROTEM®.^{60, 63} Somit gehen wir von einer geringeren Fibrinolyse beim Hund im Vergleich zum Menschen aus. Dies wird durch TEG-Ergebnisse der Arbeitsgruppe um Vilar und Kollegen unterstützt, die Blut von insgesamt 43 Hunden mit der TEG analysierten und ebenfalls eine geringe Lyseaktivität nachweisen konnten.^{58, 106}

Ähnlichkeit der Tierspezies zum Menschen

Da es vermutlich bei allen Tiermodellen Unterschiede zur humanen Gerinnung gibt, sollte, um falsche Schlussfolgerungen bei der Übertragung von gerinnungsphysiologischen Aspekten aus Tierexperimenten auf den Menschen zu vermeiden, das Tier gewählt werden, welches gerinnungsphysiologisch die größte Ähnlichkeit zur menschlichen Hämostase aufweist.⁴⁵ Bezüglich der Analyse der Messungen mit allen Reagenzien (Tab. 2, S. 38), zeigte der Hund im Vergleich zum Menschen die ähnlichste Gerinnung. Bei der deskriptiven Analyse der NATEM-Messung (Tab. 3, S. 38), sind das Schaf und der Hund die Tierspezies mit der größten Ähnlichkeit zum Menschen. Die von uns gefundenen Ergebnisse decken sich mit den vorhandenen Literaturdaten, insbesondere bezüglich des Schafs.^{41, 89} Höhle schloss, anhand gemessener Blutbestandteile und den Globaltests Quick und aPTT, dass das Schaf, gefolgt von Kaninchen, Hund und Schwein, dem Menschen am ähnlichsten ist.⁴¹ Siller-Matula und Kollegen untersuchten unter anderem die Tierarten Schwein, Kaninchen und Schaf mittels NATEM-Messung. In allen drei Spezies wurde verglichen zum Menschen eine relative Hyperkoagulabilität festgestellt. Das Schaf war in dieser Versuchsreihe dem menschlichen Gerinnungssystem ähnlicher als Kaninchen und Schwein und bestätigt somit unsere Ergebnisse.⁸⁹ Das Schweinmodell wies das ähnlichste Lyseverhalten im Vergleich zum Menschen auf, was sich mit unseren Ergebnissen deckt.⁸⁹ Die von uns ermittelten Werte der Spezies Hund zeigen Übereinstimmung

mit den Messwerten der Arbeitsgruppe um Smith bei allen von uns verwendeten Reagenzien (NATEM, EXTEM, INTEM).⁹¹ Unterschiede, wie beispielsweise zwischen der Arbeitsgruppe um Höhle und unseren Ergebnissen beim Fibrinolyseverhalten, können durch die mangelnde Vergleichbarkeit von Globaltests wie aPTT und Quick, sowie Einzelfaktorenmessungen zur ROTEM[®] oder durch artspezifische Gerinnungsaktivatoren (z.B. Kaninchenhirnthromboplastin) begründet sein.^{41, 55}

Höhle kam bereits zu dem Schluss, dass die Komplexität des Gerinnungssystems als limitierender Faktor bezüglich einer Aussage für das geeignetste Tiermodell zu sehen ist und es nicht möglich erscheint ein einziges Tiermodell für unterschiedliche Versuche als vorrangig geeignet einzusetzen.⁴¹ Es gibt Einzelaspekte der Gerinnung, bei denen gewisse Spezies eine bessere Übereinstimmung mit der humanen Gerinnung aufweisen als andere. Beispielsweise zeigte sich das Schwein besonders hinsichtlich der Lyse des Gerinnsels dem Menschen ähnlich, bezüglich der Gerinnungskinetik hingegen waren Schaf und Hund dem Menschen ähnlicher.^{66, 69, 89, 102} Zusätzlich müssen bei der Wahl des Tiermodells jedoch neben der Gerinnung noch weitere Aspekte beachtet werden, wie beispielsweise die anatomischen Ähnlichkeiten, flussdynamische Eigenschaften, ethische Kriterien, Kostenfaktoren und die technische Durchführbarkeit des Versuchsvorhabens.⁴¹ Trotz einer deutlichen Nähe zum Menschen, die Anatomie und Flusseigenschaften betreffend, gibt es Hinweise, dass das Schwein aus hämostaseologischer Sicht nicht das am besten geeignete Tiermodell zur Beforschung von Hämostyptika ist, auch wenn es sich um das bisher am häufigsten verwendete Modell handelt.^{34, 41}

Der Beagle Hund und das Merino Schaf erscheinen aufgrund ihrer Gerinnungseigenschaften insbesondere bezüglich der Gerinnungskinetik in unserer Untersuchung hierfür besser geeignet. Dies wird durch Ergebnisse anderer viskoelastischer Gerinnungsanalysen, sowie Vergleichsuntersuchungen verschiedener Spezies zum Menschen bestätigt.^{41, 89, 91} Bezüglich der Fibrinolyse zeigte das Schwein sowohl in unserer Studie als auch in anderen *in-vitro* Analysen die größte Ähnlichkeit zum Menschen.^{66, 69, 89, 102} Das Kaninchen hatte insgesamt die geringste Ähnlichkeit zum Menschen durch eine aktivere

Gerinnungskinetik, sowie eine weniger aktive Lyse der Gerinnsel im Vergleich zum Menschen.

4.2. Vergleich Hämostyptika mittels Probandenblutproben

In den letzten 15 Jahren wurden zahlreiche Hämostyptika zur Behandlung nicht komprimierbarer externer Blutungen entwickelt, die mittlerweile flächendeckend in den Streitkräften verschiedenster Nationen eingesetzt werden.⁵⁴ Durch zahlreiche Neuentwicklungen und einer großen Produktvielfalt war es notwendig, die auf dem Markt befindlichen Produktalternativen vergleichend zu testen.

Die meisten signifikanten Änderungen und somit das stärkste hämostyptische Potential in humanem Blut erreichte QCG, gefolgt von CelG und H&HG in unserer Studie (Tab. 5, S. 58 und Tab. 6, S. 59). Unterschiede bezüglich der Wirkung der getesteten Hämostyptika bestehen hinsichtlich der Gerinnungsbeeinflussung (Kinetik, Thrombusstärke, Thrombusbeständigkeit) und dem maßgeblichen Wirkungsbereich (intrinsische-, extrinsische Gerinnung und Gerinnung unter Thrombozyteninaktivierung).

Vergleich der Wirkmechanismen der Hämostyptika

Bei Schweinen und beim Menschen zeigte QCG in TEG Analysen analog zu unserer Untersuchung eine signifikant gesteigerte Gerinnung (früherer Beginn, höhere Gerinnungsgeschwindigkeit, stabilerer Thrombus).^{51, 108} Dies beruht in erster Linie auf einer gesteigerten Aktivierung der Gerinnung durch das in der Gaze enthaltene Kaolin, einem bekannten Aktivator der intrinsischen Gerinnungskaskade. Die erwartete frühzeitige Gerinnungsaktivierung und konsekutive hohe Gerinnungsgeschwindigkeit spiegelt sich in unseren Daten in einer signifikanten Steigerung der Parameter CT, α und CFT vergleichend zu den

Werten ohne hämostyptischen Zusatz wieder. Ostomel und Kollegen zeigten, dass eine Korrelation zwischen dem r-Wert der TEG Messung, der vergleichbar mit der CT der ROTEM[®] ist und der Überlebensrate von in-vivo Tierstudien besteht. Je kürzer die r-Zeit, desto höher die Überlebensrate, was für die Wirksamkeit von QCG spricht.⁷² Auch weist QCG die meisten signifikanten Veränderungen bei der intrinsisch aktivierten Gerinnung und der Gerinnung mit Thrombozyteninaktivierung auf (Abb. 30-38, S. 49). Die Aktivierung der intrinsischen Gerinnungskaskade kann anhand unserer Daten somit nachvollzogen werden. CelG wies insgesamt weniger signifikante Veränderungen als QCG auf, ist aber durch beständigere Thromben gekennzeichnet (Tab. 5, S. 58). Durch die kationische Ladung des Chitosans der CelG gewinnt der entstandene Thrombus anscheinend an Beständigkeit, verglichen zu QCG und QC ACS+.^{34, 54} Die erhöhte Thrombusbeständigkeit kann die erniedrigten Nachblutungsraten bei CelG im Vergleich zu QCG in tierexperimentellen Studien erklären.⁸⁰ Die Tatsache, dass es bei allen Messreihen unserer Studie signifikante Unterschiede des LI 45 unter CelG gab, spricht für die Wirksamkeit der Chitosangranula unabhängig von Gerinnungsfaktoren und Thrombozyten.³⁴

Gaze ohne hämostyptische Zusätze wie H&HG hatte deutliches hämostyptisches Potential und ist nach unseren Daten sogar Hämostyptika der älteren Generation (QC ACS+) überlegen. Als Wirkmechanismus vermuten wir die Kontaktaktivierung der intrinsischen Gerinnung durch die weit verzweigte Oberfläche der Baumwollgaze. Hierdurch kam es vor allem zur Bildung von beständigeren Thromben, was die erniedrigten Nachblutungsraten in tierexperimentellen Studien im Vergleich zu QCG erklärbar macht. Ostomel und Kollegen ermittelten einen positiven Zusammenhang bezüglich der Oberflächengröße der getesteten Hämostyptika und der Überlebensrate der Schweine von *in-vivo* Tierstudien. Je größer die Oberfläche ist, desto besser kann das Hämostyptikum mit Blut in Kontakt treten und wirken.^{72, 80} Dieser Zusammenhang vermag das vorhandene hämostyptische Potential unabhängig von den verwendeten Aktivatoren der verschiedenen Messreihen erklären.

QC ACS+ hatte in unseren Messungen mit Abstand das schwächste

hämostyptische Potential. Rückschlüsse auf den Wirkmechanismus des enthaltenen Zeolith im Sinne einer exothermen Reaktion mit Konzentration von Gerinnungsfaktoren lassen sich anhand unserer Daten nicht ziehen.³⁴

Vergleich unserer Ergebnisse mit denen bisheriger in-vitro Studien

In der Literatur existieren einige Studien in denen Hämostyptika *in-vitro* meist mittels TEG analysiert wurden.^{15, 19, 50, 51, 72, 108} Die Inkubation des Blutes mit den Hämostyptika war uneinheitlich. Es lassen sich zwei verschiedene Methoden zur *in-vitro* Inkubation des Blutes unterscheiden. Zum einen wurden einige Milliliter Blut im Abnehmeröhrchen mit dem zu testenden Produkt in Verbindung gebracht und anschließend die viskoelastisch zu untersuchende Blutmenge abpipettiert. Während der Messung hatte das Hämostyptikum keinen Kontakt zum Blut.^{15, 50, 51, 108} Zum anderen wurde das zu testende Produkt direkt vor Beginn der Messung, wie in unserer Studie, in die Messküvette gegeben. Während der Messung hatte das Hämostyptikum dauerhaft Kontakt zur Blutprobe.^{19, 72}

Watters und Kollegen inkubierten humanes Blut mit QuikClot Combat Gauze (vergleichbar mit QCG), CelG und Standardverbandsmaterial ohne hämostyptischen Zusatz und verglichen das hämostyptische Potential mittels TEG.¹⁰⁸ Korrespondierend zu unseren Daten erzielte QuikClot Combat Gauze (gleicher Wirkstoff wie QCG) bei Gerinnungskinetik und Thrombusstabilität eine signifikante Steigerung der Gerinnung verglichen zu unbehandeltem Blut. Im Gegensatz zu unseren Daten, wiesen CelG und Verbandsmaterial ohne Zusatz verglichen zum unbehandelten Blut kein hämostyptisches Potential auf.¹⁰⁸ Die Ursache für diese Unterschiede ist wahrscheinlich in der anderen Inkubationsmethode im Vergleich zu unserer Studie begründet. Bei Watters bestand während der Messung kein Kontakt zwischen Blut und Hämostyptikum, was für die Wirkung von CelG und Verbandsmaterial ohne hämostyptischen Zusatz jedoch notwendig scheint. Im Gegensatz hierzu hält die einmal stattgefundenen Initiierung der Gerinnung durch das in QuikClot Combat Gauze enthaltene Kaolin an und die Effekte sind noch messbar, auch wenn das

eigentliche Hämostyptikum nicht mehr im direkten Blutkontakt steht.¹⁰⁸

Kheirabadi und Kollegen analysierten verschiedene Hämostyptika *in-vitro* mit der TEG.^{50, 51} Sie inkubierten Schweineblut unter anderem mit Combat Gauze ein vom Wirkstoff gleiches Produkt wie QCG. Außerdem analysierten sie Standardverbandsmaterial (placebo gauze), vergleichbar mit der in unserer Studie verwendeten H&HG und verglichen es mit einer Blutprobe ohne jeglichen Zusatz.⁵¹ Combat Gauze bewirkte wie in unserer Studie einen schnelleren Gerinnungsbeginn und eine höhere Gerinnselbildungsgeschwindigkeit, sowie stabilere Blutgerinnsel im Vergleich zur Kontrollgruppe ohne Hämostyptikum. Verbandsmaterial ohne hämostyptischen Zusatz bewirkte sowohl bei Kheirabadi et al. als auch in unserer Studie die Bildung stabilerer Gerinnsel in der TEG Messung, im Vergleich zur Blutuntersuchung ohne jeglichen Zusatz. Eine gesteigerte Gerinnungskinetik zeigte sich in unserer Studie bezüglich des Beginns der Gerinnselbildung. Kheirabadi ermittelte eine signifikant höhere Geschwindigkeit der Gerinnselbildung. Insgesamt ergeben die Ergebnisse der Arbeitsgruppe um Kheirabadi Ähnlichkeit mit denen unserer Studie, obwohl die Inkubation der Blutproben mit den Hämostyptika anderes als in unserer Studie ohne direkten Kontakt des Hämostyptikums während der Messung erfolgte.⁵¹

In einer vergleichbaren Untersuchung analysierten Kheirabadi et al. Schweineblut mit QC ACS+ und Celox in Granulatform gegenüber einer Kontrollgruppe ohne hämostyptischen Zusatz mit der TEG.⁵⁰ Unter dem Zusatz von Celox Granula zeigten sich keine Veränderungen gegenüber der Kontrollgruppe ohne hämostyptischen Zusatz. In unserer Studie hatte CelG dagegen hämostyptisches Potential (siehe Tab. 5, S. 58 und Tab. 6, S. 59). Eine mögliche Ursache für diesen Unterschied ist die Verwendung von Celox in Form einer Gauze in unserer Studie und die andere Inkubation der Blutproben. In unserer Studie hatte das Hämostyptikum während der gesamten Messung Kontakt zum Blut, hingegen bei der Arbeitsgruppe um Kheirabadi nur kurzzeitig vor Beginn der eigentlichen Messung.⁵⁰ Celox benötigt vermutlich längeren Kontakt zum Blut, damit es seine Wirkung entfalten kann. QC ACS+ führte in unserer Studie zu keinen signifikanten Veränderungen. Unter Kheirabadi und Kollegen zeigte sich sowohl ein signifikant späterer Beginn der Gerinnselbildung, als auch eine geringere Geschwindigkeit

der Gerinnelbildung im Vergleich zur Kontrollgruppe ohne hämostyptischen Zusatz. QC ACS+ hatte übereinstimmend in beiden Studien kein hämostyptisches Potential.⁵⁰

Ostomel et al. hingegen konnten mit der von uns verwendeten Inkubationsmethode bei chemisch modifizierten Zeolithen einen prokoagulatorischen Effekt mittels TEG nachweisen.⁷² Allerdings ist der Effekt der chemischen Modifikation auf das hämostyptische Potential unklar und die verwendete Menge war mit 20 mg deutlich größer als in unserer Untersuchung, was einen direkten Vergleich nicht zulässt. Gründe für die geringe Wirksamkeit von QC ACS+ in unserer *in-vitro* Studie waren aller Voraussicht nach die geringe Testmasse und die damit einhergehende geringe Oberfläche.⁷² Durch Hinzugabe größerer Mengen QC ACS+ hätte wahrscheinlich ein stärkeres hämostyptisches Potential erreicht werden können. Allerdings ist die Relation zwischen hämostyptischem Potential und Gewicht wichtig. Übertragen auf den Einsatz am Soldaten bedeutet dies, dass eine höhere Masse im Vergleich zu anderen Hämostyptika getragen werden müsste. Um Soldaten nicht unnötig zu belasten, sollten Hämostyptika möglichst leicht sein und ein geringes Packmaß aufweisen.⁷⁹

Causey und Kollegen verglichen Verbandsmaterial ohne hämostyptischen Zusatz (vergleichbar mit H&HG) mit QuikClot Combat Gauze (vergleichbar mit QCG). Es wurde Schweineblut mit den Hämostyptika inkubiert, allerdings ohne anschließenden direkten Kontakt zum Blut während der NATEM Messung der ROTEM®.¹⁵ QuikClot Combat Gauze hatte eine signifikant kürzere CT als normales Verbandsmaterial. In unserer Studie zeigte QCG ebenfalls kürzere CT Werte als H&HG. Unter Causey et al. ergab sich kein signifikanter Unterschied bezüglich der CFT, in unserer Studie ist die CFT unter H&HG mehr als doppelt so lang wie unter QCG. (siehe Abb. 21) Ursache hierfür ist wahrscheinlich die Verwendung von Blut azidotischer Schweine mit Verbrauchskoagulopathie unter Causey et al., sodass die geringer vorhandenen Blutbestandteile schneller unter QCG aktiviert wurden, aber die Gerinnelbildung nicht mehr steigerbar war.¹⁵

In der bisherigen Literatur sind keine Studien beschrieben, in denen Hämostyptika *in-vitro* mit der von uns durchgeführten EXTEM-, INTEM-, und FIBTEM Messung

der ROTEM[®] analysiert wurden. Betrachtet man die Anzahl signifikanter Unterschiede aller Hämostyptika, so zeigten sich bei der NATEM Messung die meisten signifikanten Unterschiede (Tab. 4, S. 58). Aufgrund fehlender gerinnungsaktivierender Zusätze bei der NATEM Messung, konnten die Hämostyptika ihr Wirkpotential am deutlichsten entfalten. Bei der EXTEM Messung gab es insgesamt die wenigsten gerinnungsfördernden Unterschiede unter Hämostyptikaeinfluss (Tab. 4, S. 58). Aufgrund der raschen Gerinnungsaktivierung mittels r ex-tem[®] Reagenz wurde das hämostyptische Potential der Testsubstanzen mitunter überlagert. Beispielhaft zeigte QCG bei der EXTEM Messreihe lediglich einen signifikanten Unterschied, in den anderen Messreihen hingegen jeweils drei signifikante Unterschiede (Abb. 20-38). CelG hatte in allen Messreihen zwei bis drei signifikante Unterschiede. CelG und H&HG veränderten in allen Messreihen den LI 45 signifikant, was für eine Bildung beständigerer Gerinnsel unabhängig vom Gerinnungsaktivator spricht (Abb. 24, S. 43, Abb. 29, S. 48, Abb. 34, S. 53, Abb. 38, S. 57). Für eine orientierende Beurteilung des hämostyptischen Potentials eignet sich daher die NATEM Messung am meisten. Zur genaueren Beurteilung des Wirkmechanismus und des Wirkungsbereiches empfiehlt sich zusätzlich die EXTEM-, INTEM- und FIBTEM Messung.

Vergleich unserer Ergebnisse mit denen bisheriger in-vivo Studien

Im direkten Einsatz wurden Hämostyptika hauptsächlich an letalen Großtierblutungsmodellen vergleichend untersucht.^{34, 54} Aufgrund hämostaseologischer Unterschiede zwischen Mensch und Tier besteht jedoch die Möglichkeit, dass eine hämostyptische Substanz im Tierversuch eine andere Wirkung als beim Menschen aufweist, beispielsweise durch eine unterschiedliche Aktivität an Gerinnungsfaktoren, die für den Wirkmechanismus des Hämostyptikums eine tragende Rolle spielen. QCG zeigte in den tierexperimentell gewonnenen Daten im Mittel die größte hämostyptische Wirksamkeit. Aktuell ist es das primär vom amerikanischen Committee on Tactical Combat Casualty Care

(CoTCCC) empfohlene Hämostyptikum.^{34, 54, 90, 97}

CelG zeigte in unserer Studie das zweitstärkste hämostyptische Potential. In bisherigen *in-vivo* Tierversuchen wurde CelG von den Arbeitsgruppen Rall, Watters und Kunio getestet. In diesen Studien erreichte CelG ein starkes hämostyptisches Potential, vergleichbar mit QCG.^{57, 80, 108} In den Leitlinien des CoTCCC wird die Anwendung von CelG empfohlen, wenn primär kein QCG verfügbar ist.⁹⁷

QC ACS+ hatte in unserer Studie das schwächste hämostyptische Potential. In einer bisherigen *in-vivo* Studie hatte QC ACS+ geringeres hämostyptisches Potential als Celox in Granulatform.⁵⁰ In gleicher Studie wurde der Versuchsaarm von QC ACS+ wegen Unwirksamkeit sogar abgebrochen.⁵⁰ QC ACS+ wird daher nicht mehr vom CoTCCC empfohlen.⁹⁷

H&HG erreichte in unserer Studie ein deutliches hämostyptisches Potential, wesentlich stärker als QC ACS+ und nur minimal geringer als CelG (Tab. 5, S. 58 und Tab. 6, S. 59). Unbeschichtete Standard Gauze zeigte auch in einigen *in-vivo* Tierversuchen vergleichbares hämostyptisches Potential wie QCG oder CelG.^{57, 62, 108} Das hämostyptische Potential von Standard Gauze ist somit kein Unikum des *in-vitro* Versuches, sondern auch *in-vivo* vorhanden und betont die Wichtigkeit des gut ausgeführten Wundpackings.

Insgesamt ist die von uns gefundene Reihenfolge der Hämostyptika mit denen von *in-vivo* Studien vergleichbar.^{50, 57, 80, 108} Die vor allem bei Schweinen gewonnenen Daten erscheinen somit prinzipiell auf den Menschen übertragbar, obwohl die Gerinnung anderer Tiermodelle wie Hund und Schaf, gemäß unseren Daten, dem Menschen ähnlicher ist.

Die verschiedenen Wirkstoffe der von uns untersuchten Hämostyptika lassen sich bis auf QC ACS+ anhand unserer Messergebnisse nachvollziehen.^{34, 72, 80} QCG führte beispielsweise vor allem zu einem schnelleren Beginn der Gerinnungsbildung. CelG und H&HG erhöhten besonders die Thrombusbeständigkeit. Bisherige *in-vitro* Versuche zur Analyse von Hämostyptika zeigten abhängig von der Inkubationsmethode deutliche oder keine Übereinstimmung mit den Ergebnissen unserer Studie.^{15, 50, 51, 72, 108} Bei Inkubationsverfahren ohne dauerhaften direkten Kontakt des Hämostyptikums zum Blut, zeigte beispielsweise

CelG eine geringere Wirksamkeit, als bei direktem Kontakt des Hämostyptikums zum Blut während der gesamten Messung.¹⁰⁸

In unserer Studie hatte QCG gefolgt von CelG das stärkste hämostyptische Potential, sodass beide Produkte für die Behandlung lebensbedrohlicher nicht komprimierbarer Blutungen in Kampfeinsätzen zu empfehlen sind.

4.3. Methodik und Limitationen

Rotationsthromboelastometrie (ROTEM®)

Viskoelastische Gerinnungsmessungen wie TEG oder ROTEM® können Parameter der Geschwindigkeit der Gerinnselformung, der maximalen Gerinnselfestigkeit und der Lyse im Sinne eines ganzheitlichen funktionellen Monitorings erfassen.⁶⁰ Sie werden deshalb den nur Teilaspekten der Gerinnung erfassenden Globaltests zunehmend als überlegen betrachtet und in der Folge in den letzten Jahren zunehmend beim Menschen klinisch angewendet.^{35, 55, 61, 85} Sie bringen wertvolle Zusatzinformationen zu bisherigen etablierten hämostaseologischen Untersuchungsverfahren und bieten damit eine sinnvolle Ergänzung zur Vergleichbarkeit einzelner Gerinnungssysteme.⁵⁵

Prinzipiell ist die generelle Durchführbarkeit von viskoelastischen Gerinnungsmessungen bei einer großen Anzahl von Tiermodellen gegeben.^{11, 55}

Die TEG wurde für Gerinnungsanalysen unter anderem von Hund, Katze, Pferd und Ratte verwendet.^{55, 112} Messwerte von TEG und ROTEM® Analysen sind jedoch nur begrenzt übertragbar.^{85, 103} Mit der ROTEM® wurde die native Gerinnung unter anderem von Affen, Pferden, Schweinen, Ratten, Kaninchen und Schafen untersucht.^{73, 87, 89, 95} Die Arbeitsgruppe um Velik-Salchner untersuchte Schweineblut hinsichtlich der Eignung für die verschiedenen ROTEM®-Reagenzien. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass die EXTEM-, INTEM-, und NATEM Messung mit Schweineblut ohne Einschränkungen durchführbar sind.¹⁰⁴ Bei der FIBTEM Messung wird durch den im fib-tem® Reagenz enthaltenen Wirkstoff Cytocholasin D, eine irreversible Bindung von Fibrinogen an den

GPIIb/IIIa Rezeptor der Thrombozyten verhindert.^{10, 29, 59, 70, 104} Durch Erhöhung der Cytocholasindosis zeigte sich bei Analysen mit menschlichen Blut eine abnehmende Gerinnselstärke (MCF), die letztlich in einer terminalen Plateauphase endete.^{59, 104} Im Schweineblut stellte sich trotz hoher Cytocholasindosierungen keine Plateauphase ein.¹⁰⁴ Dies bedeutet, dass durch dieselbe Cytocholasin D Dosis im menschlichen Blut relativ gesehen mehr Thrombozyten inaktiviert werden können als im Schweineblut und die Thrombozyteninaktivierung somit bei Verwendung der Standardmenge beim Schwein unvollständig ist. Um einen methodenbedingten systematischen Fehler zu vermeiden wurden deshalb in unserer Studie bei allen Tierblutproben keine FIBTEM Messungen durchgeführt. Ein verzögerter Ablauf der intrinsischen Gerinnungskaskade durch Ellagsäure im in-tem[®] Reagenz oder eine Beeinflussung der intrinsischen Gerinnungsaktivierung beim Kaninchen durch das im in-tem[®] Reagenz enthaltene Thromboplastin-Phospholipid aus Kaninchenhirn sind außerdem denkbar.⁴¹

Insgesamt ist die ROTEM[®] ein geeignetes kostengünstiges und wenig invasives Verfahren, um Tendenzen bezüglich Einfluss und Wirkung neuer Hämostyptika auf die Blutgerinnung zu erfassen. Hierdurch könnten *in-vivo* Tierversuche reduziert werden.⁷² Allerdings kann der von uns verwendete *in-vitro* Ansatz naturgemäß bestimmte Kriterien nicht erfassen. Materialeigenschaften wie Handhabungsfreundlichkeit, Packzeiten, Blutverlust, Nachblutungsraten, Verhalten bei Verdünnungs- und Verbrauchskoagulopathie, Verhalten bei Hypothermie, Rückstände nach Entfernung des Hämostyptikums aus der Wunde, das Verhalten des eingebrachten Hämostyptikums bei Bewegung der Wunde und Nebenwirkungen sind jedoch unabdingbar für eine vollumfängliche Bewertung eines Produktes.^{8, 54, 79, 80, 83, 108} Dies sind nur im Lebendtierversuch erfassbare Parameter, sodass Lebendtierversuche zur Evaluation von Hämostyptika weiterhin obligat sind.

Blutentnahme und Lagerung

Die Blutproben in unserer Studie wurden aus organisatorischen Gründen und aufgrund der unterschiedlichen Größe der einzelnen Spezies mit Kanülen bzw. über bereits liegende Katheter unterschiedlichen Lumens abgenommen (siehe 2.1.2.). Ob ein größeres Kanülenlumen prokoagulatorische, hypokoagulatorische oder keine Auswirkungen auf die Messwerte der TEG oder ROTEM[®] besitzt, ist noch nicht hinreichend geklärt.^{9, 30, 68} Möglicherweise ist von geringfügigen Beeinflussungen der Blutgerinnung der von uns getesteten Spezies durch die verschiedenen Blutentnahmesysteme auszugehen.

Das Blut wurde direkt nach der Abnahme untersucht, sodass die Messungen innerhalb von maximal 4 Stunden abgeschlossen waren. Die Lagerung der Blutproben erfolgte unter einer Raumtemperatur von 24 °C. Smith und Kollegen analysierten Hundeblood direkt nach der Entnahme, sowie nach 10, 20 und 30 min Lagerung mittels NATEM Messung der ROTEM[®]. Bei allen Messparametern (CT, CFT, alpha, MCF) zeigten sich signifikante Unterschiede im Sinne einer aktiveren Gerinnung nach 30 min Lagerung im Vergleich zu den Werten direkt nach der Blutentnahme. Ursache hierfür ist eine fortbestehende *ex-vivo* Kontaktaktivierung, mit Produktion von Faktor XIIa. Diese Reaktion kann nicht durch Citratantikoagulation verhindert werden, da sie unabhängig von Kalzium ist. Im menschlichen Blut wurde der Effekt der Lagerung auf gleiche Weise analysiert.⁹¹ Lediglich bei der CT zeigte sich ein signifikanter Unterschied, der jedoch schwächer als beim Hund ausgeprägt war. Daher ist von einer geringeren *ex-vivo* Kontaktaktivierung beim Menschen im Vergleich zum Hund auszugehen. Durch Hinzugabe starker Gerinnungsaktivatoren wie beispielsweise bei der EXTEM- und INTEM Messung kann der Effekt der *ex-vivo* Kontaktaktivierung im Hundeblood überlagert werden.⁹¹ So stellten sich bei der EXTEM- und INTEM Messung direkt nach Blutentnahme und nach 30 min Lagerung keine signifikanten Unterschiede bezüglich CT, CFT, alpha und MCF im Hundeblood ein.⁹¹ Im menschlichen Blut zeigten sich bis zu 120 min nach der Blutentnahme konstante Werte bei der INTEM-, EXTEM- und FIBTEM Messung.¹⁰¹ Anhand dieser Erkenntnisse ist davon auszugehen, dass die von uns gemessenen NATEM Werte der Spezies Hund

durch Lagerung bis zu 3 Stunden in seltenen Fällen, hyperkoagulatorisch sind. Somit kann ein Teil der Hyperkoagulabilität vor allem bei der NATEM Messung des Hundes als Ursache der *ex-vivo* Kontaktaktivierung erklärt werden. Würde man die Werte ohne *ex-vivo* Aktivierung betrachten, wären die Werte des Hundes vermutlich noch ähnlicher zum Menschen. Bisher noch nicht hinreichend analysiert ist, ob es bei den Spezies Schwein, Schaf und Kaninchen ähnlich ausgeprägte Effekte der *ex-vivo* Kontaktaktivierung gibt. Betrachtet man alle Tierspezies so zeigten sich bei der NATEM Messung unserer Studie die meisten signifikanten Unterschiede zum Menschen (Tab. 1, S. 37). Für zukünftige vergleichende *in-vitro* Analysen von Tierblut mittels ROTEM® zum Menschen empfiehlt sich ein sofortiger Beginn der NATEM Messung nach der Blutentnahme, um möglichst genau die Blutgerinnung frei von gerinnungsfördernden Zusätzen zu vergleichen und die *ex-vivo* Kontaktaktivierung möglichst gering zu halten.

Die Blutentnahme der Probanden für die Messungen ohne Hämostyptikum erfolgte zu einem anderen Zeitpunkt als die Blutproben für die Inkubation mit Hämostyptika. Der Zeitraum zwischen diesen beiden Blutentnahmen betrug maximal 4 Wochen. Theusinger et al. zeigten eine Reproduzierbarkeit der Ergebnisse über den Zeitraum einer Woche, wenn die Blutprobe mit dem gleichen ROTEM® Gerät analysiert wurde.¹⁰¹ Zambruni und Kollegen analysierten den Einfluss wiederholter Probenentnahmen aus dem gleichen Röhrchen auf TEG Messwerte.¹¹³ Wurden aus dem Röhrchen wiederholt Proben entnommen, zeigte sich nach 2 h Lagerung eine aktivere Gerinnung im Vergleich zum Ausgangswert. Bei den Proben aus Röhrchen ohne vorherige Probenentnahmen kam es bis 4 h nach der ersten Messung zu keinen Veränderungen.¹¹³ In unserer Studie wurde Blut aus einem Röhrchen für alle 4 Messkanäle verwendet. Somit wurden 4 Blutproben in weniger als 10 min aus einem Röhrchen entnommen. Für die nächsten 4 Messungen wurde ein neues Röhrchen verwendet. Somit sind in unserer Studie keine Artefakte durch wiederholte Probenentnahmen zu erwarten.

Probanden

Die Auswahl der Probanden dieser Studie orientierte sich an dem Kollektiv verwundeter und getöteter Soldaten in den Kampfeinsätzen OEF und OIF. Eastridge analysierten die Todesursache, von 558 US-amerikanischen Soldaten, die nach Erreichen einer medizinischen Versorgungseinheit in diesen Kampfeinsätzen von Oktober 2001 bis Juni 2009 verstarben. 97 % von ihnen waren männlich, der Altersmedian betrug 24 Jahre.²⁶ Im Zeitraum von Januar 2006 bis April 2008 starben in Afghanistan 73 kanadische Soldaten, 98 % waren männlich mit einem Altersdurchschnitt von 28 Jahren.⁷⁴ Kelly analysierte die Todesursachen von getöteten US-amerikanischen Soldaten der Operation Iraqi Freedom und Operation Enduring Freedom in zwei Gruppen. In der ersten Gruppe wurden 486 Todesfälle untersucht, das durchschnittliche Alter war 26 Jahre und 98 % waren männlich. In der 2. Gruppe wurden 496 Todesfälle untersucht, das durchschnittliche Alter war 25 Jahre und 99 % waren männlich.⁴⁷ Daher wurden als Einschlusskriterien für die Probanden unserer Studie, unter anderem männliches Geschlecht sowie Alter zwischen 25-35 Jahre, gewählt (vollständige Ein- und Ausschlusskriterien siehe 2.1.1.). Weitere Gründe für die Auswahl dieses Probandenkollektives waren der signifikante Einfluss von Alter und Geschlecht auf die mit der ROTEM[®] gemessenen Werte.^{96, 101} Je älter die Menschen sind desto kürzer sind CT- und CFT Werte und umso größer sind MCF und alpha Winkel, unabhängig vom Geschlecht. Ursache hierfür ist am ehesten die höhere Aktivität von Faktor VIII, Faktor C und Von-Willebrand-Faktor mit zunehmendem Alter.⁹⁶ Frauen hatten unabhängig vom Alter eine aktivere Gerinnung (kürzere CT, CFT und höhere Werte für alpha und MCF) als Männer.^{96, 101} Die Arbeitsgruppe um Siller-Matula verglich ebenfalls menschliches Blut mit verschiedenen Tierspezies mittels ROTEM[®]. Die Referenzwerte des Probandenkollektives waren im Vergleich zu unseren Werten gerinnungsaktiver (siehe 4.1. *Vergleich Mensch versus Schaf* und *Vergleich Mensch versus Kaninchen*). Die Ursache liegt möglicherweise in der anderen Zusammensetzung des Probandenkollektivs.⁸⁹ In unserer Studie wurde ausschließlich Blut von jungen Männern untersucht. Das Probandenkollektiv von Siller-Matula umfasste möglicherweise auch ältere Menschen sowie Frauen und

hatte demzufolge Werte im Sinne einer aktiveren Gerinnung verglichen mit unseren Werten.^{89, 96, 101}

Tiermodelle Allgemein

Um das Wundpacking bei stark blutenden Wunden realitätsnah durchführen zu können, eignen sich Großtiermodelle, da nur hier die Möglichkeit besteht, ausreichend große Wunden zu simulieren. Da die Wundgröße Einfluss auf die Einbringungsmöglichkeit des Hämostyptikums und damit das Wirkpotential hat, ist es nicht zweckmäßig Hämostyptika an Wunden zu erproben, die durch ihre Form und Größe für eine Versorgung mit Hämostyptika nicht geeignet sind.⁸ Daher untersuchten wir neben der Gerinnung der bereits in *in-vivo* Versuchen verwendeten Tierarten Schwein und Kaninchen auch die potenziell möglichen Modelle Hund und Schaf und klammerten Kleintiermodelle wie Maus oder Ratte aus.^{19, 34, 53}

4.4. Schlussfolgerung und Ausblick

Die Übertragbarkeit von experimentellen Ergebnissen verschiedener Tierspezies auf den Menschen ist meist nur eingeschränkt möglich. Ursache sind oftmals für den Menschen konzipierte und validierte Messverfahren. Grundvoraussetzung für einen möglichen Vergleich ist die Analyse von gesunden Probanden und Tieren unter identischen Bedingungen.⁶⁵ Des Weiteren sind Unterschiede zwischen verschiedenen Tierrassen denkbar, sodass eine Untersuchung der nativen Gerinnung der jeweiligen Tierrasse vor hämostaseologischen Versuchen notwendig erscheint.⁶⁵ Die in dieser Studie erhobenen Werte sind daher als Basisuntersuchung zur besseren Übertragbarkeit tierexperimenteller Daten auf den Menschen einzustufen. Bei allen in unserer Studie getesteten Tierspezies bestehen bezüglich der Ähnlichkeit zum Menschen signifikante Unterschiede. Gerinnungsphysiologisch am ähnlichsten zum Menschen scheinen der Hund

(Beagle) gefolgt vom Schaf (Merino) zu sein.

Die Analyse des Gerinnungspotentials von Hämostyptika an menschlichem Blut mit der ROTEM[®] zeigt insgesamt Übereinstimmung mit tierexperimentell ermittelten *in-vivo* Ergebnissen, trotz deutlicher gerinnungsphysiologischer Unterschiede zum Menschen. Auch in Zukunft werden Lebertiermodelle für eine allumfassende Wirkungsanalyse von Hämostyptika notwendig sein. Die Ergebnisse von *in-vivo* Studien anderer Nationen sind, falls überhaupt, nur mit zeitlicher Verzögerung publiziert. Weiterhin sind solche Versuchsreihen sehr aufwendig und kostspielig in der Durchführung und aus tierethischer Sicht umstritten. Nach Inkrafttreten der neuen EU-Tierschutzrichtlinien ist zukünftig in Europa sehr wahrscheinlich mit einer erschwerten Umsetzbarkeit solcher *in-vivo* Tierversuche zu rechnen.²²

Zur Reduzierung der Versuchstierzahlen und Belastung der Versuchstiere formulierten Russel und Burch bereits 1959 das „3R Prinzip“ (Refinement, Reduction, Replacement), welches explizit *in-vitro* Methoden empfiehlt.⁸⁴ Die viskoelastische Gerinnungsanalyse mittels ROTEM[®] bietet einen kostengünstigen und einfach umsetzbaren Ansatz neue hämostyptische Substanzen auch an Menschenblut zu analysieren und somit einen Beitrag zur Übertragung tierexperimenteller Daten auf den Menschen liefern.⁷²

Hämostyptika der neuen Generation wie QCG und CelG weisen verschiedene Wirkmechanismen auf und haben ein hohes hämostyptisches Potential, wobei QCG in unserer Versuchsreihe am wirksamsten war. Trotz unterschiedlicher Zusammensetzung der Hämostyptika wird von einigen Autoren das Erreichen eines Plateaus in der Wirksamkeit diskutiert.⁸⁰ In unserer Studie zeigte QCG vor allem einen schnelleren Beginn der Gerinnungsbildung. CelG und H&HG führten eher zu stabileren Thromben. Eine Kombination in Form eines starken Gerinnungsaktivators wie Kaolin mit einem stark Thrombus stabilisierenden Material wie normaler Baumwollgaze, könnte eine Wirkungssteigerung durch sich addierende Effekte für möglich erscheinen lassen.

5. Zusammenfassung

Die unkontrollierte Blutung ist die häufigste vermeidbare Todesursache bei Kampfhandlungen. Eine frühe und effektive Blutungskontrolle ist somit die wirksamste Strategie, die Opferzahlen zu senken. Ein therapeutischer Ansatz sind hierbei Hämostyptika, lokal gerinnungsfördernde Substanzen. Um das Wirkpotential dieser Substanzen zu evaluieren, wurden diese bisher nur in zahlreichen Tiermodellen getestet, die sich methodisch zudem erheblich unterschieden.

Ziel unserer Studie war es daher, erstens die Spezies Schwein, Schaf, Hund und Kaninchen bezüglich ihrer hämostaseologischen Eigenschaften und damit Eignung für weitere Untersuchungen an Hämostyptika, laborchemisch gegenüber dem Menschen zu vergleichen. Zweitens wurde das hämostyptische *in-vitro* Potential von Quikclot ACS+™ (QC ACS+), QuikClot Gauze™(QCG), Celox™ Gauze (CelG) und H&H PriMed Compressed Gauze (Kontrollgruppe; H&HG) am menschlichen Blut evaluiert, um Aussagen bezüglich des Wirkmechanismus und des hämostyptischen Gesamtpotenzials treffen zu können.

Hierzu wurde Blut vom Menschen (n = 8), Schwein (n = 8), Schaf (n= 8), Hund (n = 9) und Kaninchen (n = 9) mittels der Rotationsthromboelastometrie (ROTEM® delta, Team International GmbH, München, Germany) getestet. Diese erfasst den zunehmenden Widerstand, eines sich entwickelnden Blutgerinnsels und kann somit Aussagen bezüglich dem Beginn und der Geschwindigkeit der Gerinnung, sowie der Thrombusstärke und -lyse treffen. Zusätzlich wurde das Blut der menschlichen Probanden direkt mit den Hämostyptika inkubiert und deren Einfluss auf die Gerinnung erfasst. Nach Testung auf Normalverteilung (Kolmogorov-Smirnov-Test), erfolgte eine einfaktorielle bzw. repeated measures ANOVA mit dem Post-Hoc-Test nach Bonferroni ($p < 0,05$).

Die Blutgerinnung aller Tierarten war deutlich aktiver als die menschliche Gerinnung (früherer Beginn, festerer und beständigerer Thrombus). Unter Beachtung der Gesamtgerinnung, sowie der intrinsischen und extrinsischen Gerinnungskomponente, waren das Hundemodell gefolgt vom Schafmodell dem

Menschen am ähnlichsten. Bezüglich der Lyse des Thrombus zeigte das Schwein die größte Ähnlichkeit zum Menschen. Das Kaninchen hatte insgesamt die geringste Übereinstimmung mit dem Menschen.

Beim Vergleich der getesteten Hämostyptika bewirkte QCG die meisten signifikanten Gerinnungsveränderungen, gefolgt von CelG, H&HG und QC ACS+. Verglichen mit den Normalwerten führte QCG vor allem zu einer früheren Gerinnungsaktivierung, aber auch zu massiveren und stabileren Thromben. Bei CelG hingegen wurde vor allem die Thrombusbeständigkeit gefördert, der Einfluss auf den Gerinnungsbeginn fiel weniger deutlich aus. Selbst die nicht mit Hämostyptika versetzte H&HG führte zu einer gesteigerten Gerinnung, vor allem durch beständigere Thromben. QC ACS+ hingegen wies nur geringe hämostyptische Eigenschaften auf. Aufgrund der unterschiedlichen Wirkungsschwerpunkte ist eine Kombination der einzelnen Wirkmechanismen eine denkbare Möglichkeit, das Gesamtpotenzial von zukünftigen Hämostyptika zu steigern. Für die Behandlung nicht komprimierbarer externer Blutungen bei Verwundeten in Kampfeinsätzen empfiehlt sich aktuell die Anwendung von QCG und CelG.

6. Literaturverzeichnis

1. Acheson EM, Kheirabadi BS, Deguzman R, Dick EJ, Holcomb JB: Comparison of hemorrhage control agents applied to lethal extremity arterial hemorrhages in swine. *J Trauma* 59: 865-874 discussion 874-875 (2005)
2. Achneck HE, Sileshi B, Jamiolkowski RM, Albala DM, Shapiro ML, Lawson JH: A Comprehensive Review of Topical Hemostatic Agents: Efficacy and Recommendations for Use. *AnnSurg* 251: 217-228 (2010)
3. Acosta JA, Yang JC, Winchell RJ, Simons RK, Fortlage DA, Hollingsworth-Fridlund P, Hoyt DB: Lethal injuries and time to death in a level I trauma center. *J Am Coll Surg* 186: 528-533 (1998)
4. Ahuja N, Ostomel TA, Rhee P, Stucky GD, Conran R, Chen Z, Al-Mubarak GA, Velmahos G, Demoya M, Alam HB: Testing of modified zeolite hemostatic dressings in a large animal model of lethal groin injury. *J Trauma* 61: 1312-1320 (2006)
5. Alam HB, Uy GB, Miller D, Koustova E, Hancock T, Inocencio R, Anderson D, Llorente O, Rhee P: Comparative analysis of hemostatic agents in a swine model of lethal groin injury. *J Trauma* 54: 1077-1082 (2003)
6. Alam HB, Chen Z, Jaskille A, Querol RI, Koustova E, Inocencio R, Conran R, Seufert A, Ariaban N, Toruno K, Rhee P: Application of a zeolite hemostatic agent achieves 100% survival in a lethal model of complex groin injury in Swine. *J Trauma* 56: 974-983 (2004)
7. Alam HB, Burris D, DaCorta JA, Rhee P: Hemorrhage control in the battlefield: role of new hemostatic agents. *Mil Med* 170: 63-69 (2005)
8. Arnaud F, Teranishi K, Tomori T, Carr W, McCarron R: Comparison of 10 hemostatic dressings in a groin puncture model in swine. *J Vasc Surg* 50: 632-639 (2009)

9. Bauer NB, Er E, Moritz A: Influence of blood collection technique on platelet function and coagulation variables in dogs. *Am J vet Res* 72: 64-72 (2011)
10. Bennett JS, Zigmond S, Vilaire G, Cunningham ME, Bednar B: The platelet cytoskeleton regulates the affinity of the integrin alpha(IIb)beta(3) for fibrinogen. *J Biol Chem* 274: 25301–25307 (1999)
11. Brooks MB, Stokol T, Catalfamo JL: Comparative hemostasis: animal models and new hemostasis tests. *Clin Lab Med* 31: 139-159 (2011)
12. Calatzis A, Fritsche P, Calatzis A, Kling M, Hipp R, Stemberger A: A comparison of the technical principle of the RoTEG coagulation analyser and conventional thrombelastographic systems. *Ann Hematol* 76: 90 (1996)
13. Calatzis A, Fritsche P, Kling M, Calatzis A, Mielke L: A new technique for fast and specific intraoperative coagulation monitoring. *Eur Surg Res* 28: 47-48 (1996)
14. Carr ME: Monitoring of Hemostasis in Combat Trauma Patients. *Mil Med* 169: 11-15 (2004)
15. Causey MW, McVay DP, Miller S, Beekley A, Martin M: The efficacy of Combat Gauze in extreme physiologic conditions. *J Surg Res* 177: 301-305 (2012)
16. Champion HR, Bellamy RF, Roberts CP, Leppaniemi A: A profile of combat injury. *J Trauma* 54: 13-19 (2003)
17. Chandler WL: The thromboelastography and the thromboelastograph technique. *Semin Thromb Hemost* 21: 1-6 (1995)
18. Cox ED, Schreiber MA, McManus J, Wade CE, Holocomb JB: New hemostatic agents in the combat setting. *Transfusion* 49: 248-255 (2009)

19. Dai C, Yuan Y, Liu C, Wei J, Hong H, Li X, Pan X: Degradable, antibacterial silver exchanged mesoporous silica spheres for hemorrhage control. *Biomaterials*: 5364-5375 (2009)
20. Dai C, Liu C, Wei J, Hong H, Zhao Q: Molecular imprinted macroporous chitosan coated mesoporous silica xerogels for hemorrhage control. *Biomaterials*: 7620-7630 (2010)
21. Daraktchiev AT: Evaluation eines neuen Thrombelastographie-Verfahrens – ROTEM™ (Rotationsthrombelastometrie). Med Dissertation, Universität Marburg (2009)
22. Das Europäische Parlament und der Rat der Europäischen Union. RICHTLINIE 2010/63/EU DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 22. September 2010 zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere.
http://www.bfr.bund.de/cm/343/5_Beratung_Anlage%203_2010-63-EU.pdf
(14.06.2014)
23. Devlin JJ, Kircher SJ, Littlejohn LF: Models for hemostatic agent testing: control versus fidelity. *J Trauma* 67: 677-678 (2009)
24. Devlin JJ, Kircher SJ, Littlejohn LF: Swine models of hemorrhagic shock: to splenectomize or not to splenectomize, that is the question. *J Trauma* 67: 895-896 (2009)
25. Dickneite G, Doerr B, Kaspereit F: Characterization of the Coagulation Deficit in Porcine Dilutional Coagulopathy and Substitution with a Prothrombin Complex Concentrate. *Anesth Analg* 106: 1070-1077 (2008)
26. Eastridge BJ, Hardin M, Cantrell J, Oetjen-Gerdes L, Zubko T, Mallak C, Wade CE, Simmons J, Mace J, Mabry R, Bolenbaucher R, Blackburne LH: Died of wounds on the battlefield: causation and implications for improving combat casualty care. *J Trauma* 71: 4-8 (2011)

27. Eastridge BJ, Mabry RL, Seguin P, Cantrell J, Tops T, Uribe P, Mallett O, Zubko T, Oetjen-Gerdes L, Rasmussen TE, Butler FK, Kotwal RS, Holcomb JB, Wade C, Champion H, Lawnick M, Moores L, Blackbourne LH: Death on the battlefield (2001-2011): implications for the future of combat casualty care. *J Trauma Acute Care Surg.* 73: 431-437 (2012)
28. Evans JA, van Wessem KJ, McDougall D, Lee KA, Lyons T, Balogh ZJ: Epidemiology of traumatic deaths: comprehensive population-based assessment. *World J Surg* 34: 158-163 (2010)
29. Fox JE, Shattil SJ, Kinlough-Rathbone RL, Richardson M, Packham MA, Sanan DA: The platelet cytoskeleton stabilizes the interaction between α IIb β 3 and its ligand and induces selective movements of ligand-occupied integrin. *J Biol Chem* 271: 7004-7011 (1996)
30. Frumento RJ, Hirsh AL, Parides MK, Bennett-Guerrero E: Differences in Arterial und Venous Thromboelastography Parameters: Potential Roles of Shear Stress and Oxygen Content. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 16: 551-554 (2002)
31. Gajewski J, Povar ML: Blood Coagulation Values of Sheep. *Am J Vet Res* 32: 405-409 (1971)
32. Gondusky JS, Reiter MP: Protecting Military Convoys in Iraq: An Examination of Battle Injuries Sustained by a Mechanized Battalion during Operation Iraqi Freedom II. *Mil Med* 170: 546-549 (2005)
33. Gordy SD, Rhee P, Schreiber MA: Military applications of novel hemostatic devices. *Expert Rev Med Devices*: 41-47 (2011)
34. Granville-Chapman J, Jacobs N, Midwinter MJ: Pre-hospital haemostatic dressings: A systematic review. *Injury* 42: 447-459 (2011)
35. Guth MC, Kaufner L, Kleber C, von Heymann C: Therapy of trauma-induced coagulopathy - what is the evidence? *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther.* 47: 528-539 (2012)

36. Haas T, Innerhofer P, Klingler A, Wagner-Berger H, Velik-Salchner C, Streif W, Fries D: Re-transfusion of salvaged washed red cells improves clot formation in pigs as measured by rotational thrombelastometry (ROTEM®). *Eur J of Anaesthesiol* 25: 473-478 (2008)
37. Hartert H: Blutgerinnungsstudien mit der Thrombelastographie, einem neuen Untersuchungsverfahren. *Klin Woch* 26: 577-583 (1948)
38. Holcomb J, MacPhee M, Hetz S, Harris R, Pusateri A, Hess J: Efficacy of a dry fibrin sealant dressing for hemorrhage control after ballistic injury. *Arch Surg* 133: 32-35 (1998)
39. Holcomb JB, Pusateri AE, Harris RA, Charles NC, Gomez RR, Cole JP, Beall LD, Bayer V, MacPhee MJ, Hess JR: Effect of dry fibrin sealant dressings versus gauze packing on blood loss in grade V liver injuries in resuscitated swine. *J Trauma* 46: 49-57 (1999)
40. Holcomb JB, McMullin NR, Pearse L, Caruso J, Wade CE, Oetjen-Gerdes L, Champion HR, Lawnick M, Farr W, Rodriguez S, Butler FK: Causes of Death in U.S. Special Operations Forces in the Global War on Terrorism 2001-2004. *Ann Surg* 245: 986-991 (2007)
41. Höhle P: Zur Übertragbarkeit tierexperimenteller endovaskulärer Studien: Unterschiede der Gerinnungs- und Fibrinolyse-Systeme bei häufig verwendeten Tierspezies im Vergleich zum Menschen. *Med Dissertation, RWTH Aachen* (2000)
42. Jackson GN, Ashpole KJ, Yentis SM: The TEG® vs the ROTEM® thromboelastography/thromboelastometry systems. *Anaesthesia* 64: 212-215 (2009)
43. Jankun J, Selman SH, Keck RW, Lysiak-Szydłowska W, Skrzypczak-Jankun E: Very long half-life plasminogen activator inhibitor type 1 reduces bleeding in a mouse model. *BJU Int* 105: 1469-1476 (2009)

44. Jessen LR, Wiinberg B, Jensen AL, Kjølgaard-Hansen M, Jensen KH, Pedersen LB, Kristensen AT: *In-vitro* heparinization of canine whole blood with low molecular weight heparin (dalteparin) significantly and dose-dependently prolongs heparinase-modified tissue factor-activated thromboelastography parameters and prothrombinase-induced clotting time. *Vet Clin Pathol* 37: 363-372 (2008)
45. Karges HE, Funk KA, Ronneberger H: Activity of coagulation and fibrinolysis parameters in animals. *Arzneimittelforschung* 44: 793-797 (1994)
46. Kaše F: Beitrag zum Vergleich des Gerinnungssystems beim Menschen, Kaninchen, Hund, und Schwein. *Folia Haematol Leipzig* 97: 302-307 (1972)
47. Kelly JF, Ritenour AE, McLaughlin DF, Bagg KA, Apodaca AN, Mallak CT, Pearse L, Lawnick MM, Champion HR, Wade CE, Holcomb JB: Injury severity and causes of death from Operation Iraqi Freedom and Operation Enduring Freedom: 2003-2004 versus 2006. *J Trauma* 64: 21-26 discussion 26-27 (2008)
48. Kessler U, Grau T, Gronchi F, Berger S, Brandt S, Bracht H, Marucci C, Zachariou Z, Jakob SM: Comparison of porcine and human coagulation by thrombelastometry. *Thromb Res* 128: 477-482 (2011)
49. Kheirabadi BS, Acheson EM, Deguzman R, Sondeen JL, Ryan KL, Delgado A, Dick EJ, Holcomb JB: Hemostatic efficacy of two advanced dressings in an aortic hemorrhage model in Swine. *J Trauma* 59: 25-34 discussion 34-35 (2005)
50. Kheirabadi BS, Edens JW, Terrazas IB, Estep JS, Klemcke HG, Dubick MA, Holcomb JB: Comparison of new hemostatic granules/powders with currently deployed hemostatic products in a lethal model of extremity arterial hemorrhage in swine. *J Trauma* 66: 316-326 discussion 327-328 (2009)

51. Kheirabadi BS, Scherer MR, Estep JS, Dubick MA, Holcomb JB: Determination of efficacy of new hemostatic dressings in a model of extremity arterial hemorrhage in swine. *J Trauma* 67: 450-459 discussion 459-460 (2009)
52. Kheirabadi BS, Mace JE, Terrazas IB, Fedyk CG, Estep JS, Dubick MA, Blackbourne LH: Safety evaluation of new hemostatic agents, smectite granules, and kaolin-coated gauze in a vascular injury wound model in swine. *J Trauma* 68: 269-278 (2010)
53. Kheirabadi BS, Arnaud F, McCarron R, Murdock AD, Hodge DL, Ritter B, Dubick MA, Blackbourne LH: Development of a Standard Swine Hemorrhage Model for Efficacy Assessment of Topical Hemostatic Agents. *J Trauma* 71: 139-146 (2011)
54. Kheirabadi B: Evaluation of topical hemostatic agents for combat wound treatment. *US Army Med Dep J*: 25-37 (2011)
55. Kol A, Borjesson DL: Application of thrombelastography/thromboelastometry to veterinary medicine. *Vet Clin Pathol* 39: 405-416 (2010)
56. Kozen BG, Kircher SJ, Henao J, Godinez FS, Johnson AS: An alternative hemostatic dressing: comparison of CELOX, HemCon, and QuikClot. *Acad Emerg Med* 15: 74-81 (2008)
57. Kunio NR, Riha GM, Watson KM, Differding JA, Schreiber MA, Watters JM: Chitosan based advanced hemostatic dressing is associated with decreased blood loss in a swine uncontrolled hemorrhage model. *Am J Surg* 205: 505-510 (2013)
58. Lang T, Bauters A, Braun SL, Pötzsch B, von Pape KW, Kolde HJ, Lakner M: Multi-centre investigation on reference ranges for ROTEM thromboelastometry. *Blood Coagul Fibrinolysis* 16: 301-10. (2005)

59. Lang T, Toller W, Gütl M, Mahla E, Metzler H, Rehak P, März W, Halwachs-Baumann G: Different effects of abciximab and cytochalasin D on clot strength in thrombelastography. *J Thromb Haemost* 2: 147-153 (2004)
60. Lang T, von Depka M: Possibilities and limitations of thrombelastometry/-graphy. *Hämostaseologie* 26: 20-29 (2006)
61. Lier H, Vorweg M, Hanke A, Görlinger K: Thromboelastometry guided therapy of severe bleeding. Essener Runde algorithm. *Haemostaseologie* 33: 51-61 (2013)
62. Littlejohn LF, Devlin JJ, Kircher SS, Lueken R, Melia MR, Johnson AS: Comparison of Celox-A, ChitoFlex, WoundStat, and Combat Gauze Hemostatic Agents versus Standard Gauze Dressing in Control of Hemorrhage in a Swine Model of Penetrating Trauma. *Acad Emerg Med* 18: 340-350 (2011)
63. Luddington RJ: Review Thrombelastography/thromboelastometry. *Clin Lab Haematol* 27: 81-90 (2005)
64. Lutze G, Hartung KJ, Kutschmann K: Aktivitätsbestimmungen von Einzelfaktoren der Gerinnung bei klinisch gesunden Schweinen und Rindern. *Berl Münch Tierärztl Wschr* 105: 411-414 (1992)
65. Lutze G, Lutze G Jr, Kutschmann K, Wiens L: Plasma blood coagulation in mammals (domestic and zoo animals). Experience with screening tests and determinations of individual factor activities. *Hämostaseologie* 27: 201-210 (2007)
66. McBane RD 2nd, Ford MA, Karnicki K, Stewart M, Owen WG: Fibrinogen, fibrin and crosslinking in aging arterial thrombi. *Thromb Haemost* 84: 83-87 (2000)
67. Münster AM, Olsen AK, Bladbjerg EM: Usefulness of Human Coagulation and Fibrinolysis Assays in Domestic Pigs. *Comp Med* 52: 39-43 (2002)

68. Neate SL, Boysen SR, Wagg CR, Radics SL, Caulkett NA: Comparison of thromboelastography parameters between different catheter lumen diameters in an uncontrolled hemorrhagic shock model in swine. *Blood Coagul Fibrinolysis* 24: 581-586 (2013)
69. Nyberg A, Jakob SM, Seeman-Lodding H, Porta F, Bracht H, Bischofberger H, Jern C, Takala J, Aneman A: Time- and dose-related regional fluxes of tissue-type plasminogen activator in anesthetized endotoxemic pigs. *Acta Anaesthesiol Scand* 52: 57-64 (2008)
70. Olorundare OE, Simmons SR, Albrecht RM: Cytochalasin D and E: effects on fibrinogen receptor movement and cytoskeletal reorganization in fully spread, surface-activated platelets: a correlative light and electron microscopic investigation. *Blood* 79: 99-109 (1992)
71. Olsen AK, Hansen AK, Jespersen J, Marckmann P, Bladbjerg EM: The pig as a model in blood coagulation and fibrinolysis research. *Scand J Lab Anim Sci* 26: 214-224 (1999)
72. Ostomel TA, Stoimenov PK, Holden PA, Alam HB, Stucky GD: Host-guest composites for induced hemostasis and therapeutic healing in traumatic injuries. *J Thromb Thrombolysis* 22: 55-67 (2006)
73. Paltrinieri S, Meazza C, Giordano A, Tunesi C: Validation of thromboelastometry in horses. *Vet Clin Pathol* 37: 277-285 (2008)
74. Pannell D, Brisebois R, Talbot M, Trottier V, Ciement J, Garraway N, McAlister V, Tien HC: Causes of death in Canadian Forces members deployed to Afghanistan and implications on tactical combat casualty care provision. *J Trauma* 71: 401-407 (2011)
75. Peleg K, Rivkind A, Aharonson-Daniel L, Israeli Trauma Group: Does body armor protect from firearm injuries? *J Am Coll Surg* 202: 643-648 (2006)

76. Pfeifer R, Tarkin IS, Rocos B, Pape HC: Patterns of mortality and causes of death in polytrauma patients-has anything changed? *Injury* 40: 907-911(2009)
77. Pozza M, Millner RW: Celox (chitosan) for haemostasis in massive traumatic bleeding: experience in Afghanistan. *Eur J Emerg Med* 18: 31-33 (2011)
78. Pusateri AE, Modrow HE, Harris RA, Holcomb JB, Hess JR, Mosebar RH, Reid TJ, Nelson JH, Goodwin CW Jr, Fitzpatrick GM, McManus AT, Zolock DT, Sondeen JL, Cornum RL, Martinez RS: Advanced hemostatic dressing development program: animal model selection criteria and results of a study of nine hemostatic dressings in a model of severe large venous hemorrhage and hepatic injury in Swine. *J Trauma* 55: 518-526 (2003)
79. Pusateri AE, Holcomb JB, Kheirabadi BS, Alam HB, Wade CE, Ryan KL: Making sense of the preclinical literature on advanced hemostatic products. *J Trauma* 60: 674-682 (2006)
80. Rall JM, Cox JM, Songer AG, Cestero RF, Ross JD: Comparison of novel hemostatic dressings with QuikClot combat gauze in a standardized swine model of uncontrolled hemorrhage. *J Trauma Acute Care Surg* 75: 150-156 (2013)
81. Ran Y, Hadad E, Daher S, Ganor O, Kohn J, Yegorov Y, Bartal C, Ash N, Hirschhorn G: QuikClot Combat Gauze use for hemorrhage control in military trauma: January 2009 Israel Defense Force experience in the Gaza Strip-a preliminary report of 14 cases. *Prehosp Disaster Med* 25: 584-588 (2010)
82. Reverdiau-Moalic P, Watier H, Vallée I, Lebranchu Y, Bardos P, Gruel Y: Comparative Study of Porcine and Human Blood Coagulation Systems: Possible Relevance in Xenotransplantation. *Transplant Proc* 28: 643-644 (1996)

83. Rhee P, Brown C, Martin M, Salim A, Plurad D, Green D, Chambers L, Demetriades D, Velmahos G, Alam H: QuikClot use in trauma for hemorrhage control: case series of 103 documented uses. *J Trauma* 64: 1093-1099 (2008)
84. Russell WMS, Burch RL: *The Principles of Humane Experimental Technique*. Methuen (1959)
85. Sankarankutty A, Nascimento B, da Luz LT, Rizoli S: TEG[®] and ROTEM[®] in trauma: similar test but different results? *World J Emerg Surg* 7: 1-3 (2012)
86. Sauaia A, Moore FA, Moore EE, Moser KS, Brennan R, Read RA, Pons PT: Epidemiology of trauma deaths: a reassessment. *J Trauma* 38: 185-193 (1995)
87. Schöchl H, Solomon C, Laux V, Heitmeier S, Bahrami S, Redl H: Similarities in thromboelastometric (ROTEM[®]) findings between humans and baboons. *Thromb Res* 130: 107-112 (2012)
88. Shore-Lesserson L, Manspeizer HE, DePerio M, Francis S, Vela-Cantos F, Ergin MA: Thromboelastography-guided transfusion algorithm reduces transfusions in complex cardiac surgery. *Anesth Analg* 88: 312-319 (1999)
89. Siller-Matula JM, Plasenzotti R, Spiel A, Quehenberger P, Jilma B: Interspecies differences in coagulation profile. *Thromb Haemost* 100: 397-404 (2008)
90. Smith AH, Laird C, Porter K, Bloch M: Haemostatic dressings in prehospital care. *Emerg Med J* 30: 784-789 (2013)
91. Smith SA, McMichael M, Galligan A, Gilor S, Hoh CM: Clot formation in canine whole blood as measured by rotational thromboelastometry is influenced by sample handling and coagulation activator. *Blood Coagul and Fibrinolysis* 21: 692-702 (2010)

92. Sondeen JL, Pusateri AE, Coppes VG, Gaddy CE, Holcomb JB: Comparison of 10 different hemostatic dressings in an aortic injury. *J Trauma* 54: 280-285 (2003)
93. Sondeen JL, de Guzman R, Polykratis IA, Prince MD, Hernandez O, Cap AP, Dubick MA: Comparison between human and porcine thromboelastograph parameters in response to ex-vivo changes to platelets, plasma, and red blood cells. *Blood Coagul Fibrinolysis* 24: 818-829 (2013)
94. Spiess BD, Gillies BS, Chandler W, Verrier E: Changes in transfusion therapy and reexploration rate after institution of a blood management program in cardiac surgical patients. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 9: 168-173 (1995)
95. Spiezia L, Bertini D, Boldrin M, Radu C, Bulato C, Gavasso S, Cozzi E, Simioni P: Reference values for thromboelastometry (ROTEM[®]) in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Thromb Res* 126: 294-297 (2010)
96. Sucker C, Tharra K, Litmathe J, Scharf RE, Zotz RB: Rotation thromboelastography (ROTEM[®]) parameters are influenced by age, gender, and oral contraception. *Perfusion* 26: 334-340 (2011)
97. Tactical Combat Casualty Care Guidelines, 02 June 2014. <http://www.itstactical.com/wp-content/uploads/2014/07/TCCC-Guidelines-update-june-2-2014.pdf> (04.08.2014)
98. Teixeira PG, Inaba K, Hadjizacharia P, Brown C, Salim A, Rhee P, Browder T, Noguchi TT, Demetriades D: Preventable or potentially preventable mortality at a mature trauma center. *J Trauma* 63: 1338-1346; discussion 1346-1347 (2007)
99. Tem Innovations GmbH: ROTEM[®] *delta* Manual. 1.6.0.02. DE (2010)

100. Tillman P, Carson SN, Talken L: Platelet Function and Coagulation Parameters in Sheep During Experimental Vascular Surgery. *Lab Anim Sci* 31: 263-267 (1981)
101. Theusinger OM, Nürnberg J, Asmis LM, Seifert B, Spahn DR: Rotation thromboelastometry (ROTEM®) stability and reproducibility over time. *Eur J Cardiothorac Surg* 37: 677-683 (2010)
102. Thiex R, Küker W, Müller HD, Rohde I, Schröder JM, Gilsbach JM, Rohde V: The long-term effect of recombinant tissue-plasminogen-activator (rt-PA) on edema formation in a large-animal model of intracerebral hemorrhage. *Neurol Res* 25: 254-262 (2003)
103. Tomori T, Hupalo D, Teranishi K, Michaud S, Hammett M, Freilich D, McCarron R, Arnaud F: Evaluation of coagulation stages of hemorrhaged swine: comparison of thromboelastography and rotational elastometry. *Blood Coagul Fibrinolysis* 21: 20-27 (2010)
104. Velik-Salchner C, Schnürer C, Fries D, Müssigang PR, Moser PL, Streif W, Kolbitsch C, Lorenz IH: Normal values for thrombelastography (ROTEM®) and selected coagulation parameters in porcine blood. *Thromb Res* 117: 597-602 (2006)
105. Velmahos GC, Tabbara M, Spaniolas K, Duggan M, Alam HB, Serra M, Sun L, de Luis J: Self-expanding hemostatic polymer for control of exsanguinating extremity bleeding. *J Trauma* 66: 984-988 (2009)
106. Vilar P, Couto CG, Westendorf N, Iazbik C, Charske J, Marin L: Thromboelastographic Tracings in Retired Racing Greyhounds and in Non-Greyhound Dogs. *J Vet Intern Med* 22: 374-379 (2008)
107. Wagg CR, Boysen SR, Bédard C: Thrombelastography in dogs admitted to an intensive care unit. *Vet Clin Pathol* 38: 453-461 (2009)

108. Watters JM, Van PY, Hamilton GJ, Sambasivan C, Differding JA, Schreiber MA: Advanced Hemostatic Dressings Are Not Superior to Gauze for Care Under Fire Scenarios. *J Trauma* 70: 1413-1419 (2011)
109. Wedmore I, McManus JG, Pusateri AE, Holcomb JB: A special report on the chitosan-based hemostatic dressing: experience in current combat operations. *J Trauma* 60: 655-658 (2006)
110. Wiinberg B, Jensen AL, Rozanski E, Johansson PI, Kjølgaard-Hansen M, Tranholm M, Kristensen AT: Tissue factor activated thromboelastography correlates to clinical signs of bleeding in dogs. *The Vet J* 179: 121-129 (2009)
111. Wilhelmi MH, Tiede A, Teebken OE, Bisdas T, Haverich A, Mischke R: Ovine Blood: Establishment of a List of Reference Values Relevant for Blood Coagulation in Sheep. *ASAIO J* 58: 79-82 (2012)
112. Wohlauer MV, Moore EE, Harr J, Gonzalez E, Fragoso M, Silliman CC: A standardized technique for performing thromboelastography in rodents. *Shock* 36: 524-526 (2011)
113. Zambruni A, Thalheimer U, Leandro G, Perry D, Burroughs AK: Thromboelastography with citrated blood: comparability with native blood, stability of citrate storage and effect of repeated sampling. *Blood Coagul Fibrinolysis* 15: 103-107 (2004)

7. Anhang

Fragebogen zur Bestimmung von Gerinnungsstörungen bei den Probanden

Name, Vorname:

1	Hatten sie früher eine Thrombose und/oder eine Lungenembolie erlitten?	<input type="checkbox"/> ja	<input type="checkbox"/> nein
2	Haben nahe Familienangehörige (Eltern, Geschwister) Thrombosen oder Embolien erlitten?	<input type="checkbox"/> ja	<input type="checkbox"/> nein
3	Ist die Neigung Ihres Blutes zur übermäßigen Gerinnung (z.B. Faktor V-Leiden) bekannt?	<input type="checkbox"/> ja	<input type="checkbox"/> nein
4	Ist bei Ihnen eine Blutungsneigung bekannt oder sind sie bereits darauf untersucht worden?	<input type="checkbox"/> ja	<input type="checkbox"/> nein
5	Gibt es bei nahen Verwandten Fälle von vermehrter Blutungsneigung?	<input type="checkbox"/> ja	<input type="checkbox"/> nein
6	Erhalten sie Medikamente zur Blutverflüssigung wie z.B. Marcumar, Clopidogrel, ASS 100	<input type="checkbox"/> ja	<input type="checkbox"/> nein
7	Haben sie in den letzten 14 Tagen Schmerzmedikamente wie Aspirin, Ibuprofen, Diclofenac oder andere Medikamente genommen?	<input type="checkbox"/> ja	<input type="checkbox"/> nein

8. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Oberstarzt Prof. Dr. B. Friemert, Ärztlicher Direktor der Klinik für Unfallchirurgie und Orthopädie Bundeswehrkrankenhaus Ulm, sowie Leiter der Unfallchirurgischen Forschungsgruppe des Bundeswehrkrankenhauses Ulm, für die Möglichkeit zur Erstellung dieser Arbeit in seiner Abteilung.

Ich danke dem gesamten Team der Unfallchirurgischen Forschungsgruppe für die wissenschaftliche Anleitung und die Möglichkeit zur Durchführung von Präsentationen im Rahmen des Journal Clubs.

Oberfeldarzt Dr. R. Lechner danke ich herzlich für die hervorragende Betreuung und Unterstützung in allen Bereichen.

Für die Möglichkeit zur Durchführung der Messungen mittels Rotationsthromboelastometrie in der zentralen interdisziplinären Notaufnahme des Bundeswehrkrankenhauses Ulm danke ich besonders Oberstarzt Priv.-Doz. Dr. M. Helm. Dem gesamten Team der Notfallaufnahme danke ich für die freundliche Unterstützung.

Ich danke allen Probanden für die Teilnahme an der Studie, sowie den beteiligten Institutionen für die Möglichkeit der Probengewinnung bei den einzelnen Tierspezies.

9. Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Maximilian Müller
Geburtsort: Karl-Marx-Stadt, jetzt Chemnitz
Geburtsdatum: 16.08.1988

Schulbildung

1995-1999 Anton-Semjonowitsch-Makarenko-
Grundschule, Chemnitz
1999-2005 Alexander-von-Humboldt- Gymnasium
Chemnitz
2005-2007 Johannes-Kepler-Gymnasium Chemnitz
Juni 2007 Abitur

Berufliche Ausbildung

Juli 2007 Eintritt in die Bundeswehr als
Sanitätsoffizieranwärter
2007-2013 Studium der Humanmedizin an der
Universität Ulm
2012-2013 Praktisches Jahr am
Bundeswehrkrankenhaus Ulm, Wahlfach
Anästhesiologie
Dezember 2013 Ärztliche Approbation und Ernennung zum
Stabsarzt
Januar – April 2014 Postuniversitäre Modulare Ausbildung

Seit April 2014

Sanitätsakademie der Bundeswehr,
München und Artillerie-Kaserne Kempten
Assistenzarzt Innere Medizin,
Bundeswehrkrankenhaus Berlin