

Aus dem Institut für Anästhesiologie
des Herz- und Diabeteszentrums Nordrhein-Westfalen
Direktor: Prof. Dr. med. Kazuo Inoue

Effekte von Prostacyclin-Analogen „Iloprost“ auf Thrombelastographie, Vollblut-Impedanz-
Aggregometrie und Thrombozytenfunktion unter Shear-Stress-Bedingung (PFA-100)
- Eine „*in vitro*“ Studie -

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf

vorgelegt von
Stefan Johannes Zietlow

2004

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der

Heinrich – Heine – Universität Düsseldorf

gez.: Prof. Dr. Raab

Dekan

Referent: Prof. Dr. med. K. Inoue

Korreferent: Priv.– Doz. Dr. med. Dr. G. Giers

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Prostacyclin	1
1.2	Iloprost	2
1.3	Fragestellung	2
2	Methode	4
2.1	Thrombelastographie	4
2.2	Vollblut-Impedanz-Aggregometrie	5
2.3	Thrombozytenfunktion-Analyse mit PFA-100	6
2.4	Blutentnahme	6
2.5	Herstellung der Testproben	7
2.6	Statische Analyse	8
3	Ergebnisse	9
3.1	Blutbild und Gerinnungsstatus der Probanden	9
3.2	Einflüsse von Iloprost auf das Thrombelastogramm	9
3.3	Einflüsse von Iloprost auf die PFA-Zeit	10
3.4	Einflüsse von Iloprost auf die Vollblut-Impedanz-Aggregometrie	10
3.5	Kurzfassung der Ergebnisse	11
4	Diskussion	12
4.1	Plasmakonzentration von Iloprost in klinischer Anwendung	12
4.2	Effekte von Prostacyclin auf das Thrombelastogramm	13
4.3	Effekte von Iloprost auf das Thrombelastogramm, die Vollblut-Impedanz-Aggregometrie und die PFA-Zeit	14
4.4	Vergleich zwischen drei Thrombozytenaggregationshemmern Prostacyclin, Iloprost und Tirofiban	16
4.5	Vergleich zwischen drei Messverfahren Thrombelastographie, Vollblut-Impedanz-Aggregometrie und PFA-100-System	17
5	Zusammenfassung	19
6	Literaturverzeichnis	21
7	Abbildungen	25
8	Tabellen	33
9	Lebenslauf	38

1 Einleitung

1.1 Prostacyclin

Am Anfang der 30er Jahre des letzten Jahrhunderts entdeckten Goldblatt (1) und von Euler (2,3) unabhängig voneinander in der Samenflüssigkeit eine lipidlösliche Substanz, die stimulierend auf die glatte Muskulatur von Darm und Uterus wirkt und des weiteren eine blutdrucksenkende Wirkung zeigt. In der Annahme, dass diese Substanz ausschließlich in der Prostata synthetisiert wird, wurde diese Substanz Prostaglandin benannt. Nachdem es die technischen Voraussetzungen zuließen, gelang es am Anfang der 60er Jahre, die chemische Struktur dieses Stoffes zu bestimmen (4). Im Jahre 1976 entdeckten Vane und Mitarbeiter ein chemisch instabiles Prostaglandin und nannten es zuerst „PGX“. Später wurde es Prostacyclin (PGI_2) genannt (5,6,7).

Prostacyclin ist eine natürliche, endogene Substanz, die primär von den Endothelzellen der Gefäßwand produziert wird. Prostacyclin aktiviert über spezifische Rezeptoren die membran-gebundene Adenylatzyklase, welche zur Steigerung des intrazellulären Gehaltes vom zyclischen Adenosinmonophosphat (cAMP) führt und wirkt über diesen Weg stark antiaggregatorisch auf Thrombozyten sowie vasodilatatorisch (8). Es wurde gezeigt, dass die kontinuierliche Infusion von Prostacyclin bei Patienten mit pulmonaler Hypertonie zur Verbesserung der pulmonalen und kardialen Symptomatik und zur Senkung der Mortalität führt (9,10,11,12). Diese günstigen Effekte von Prostacyclin auf Belastbarkeit und Lebenserwartung sind nicht nur der vasodilatatorischen Wirkung von Prostacyclin, sondern auch zum Teil seiner aggregationshemmenden Wirkung auf Thrombozyten und proliferationshemmenden Wirkung auf glatte Muskelzellen zuzuschreiben (11). Bei Patienten mit pulmonaler Hypertension sind Abnormitäten der Thrombozyten vorhanden. Die Dauerinfusion von Prostacyclin normalisiert die Thrombozytenfunktion (13,14). Trotz dieser vorteilhaften Eigenschaften des Prostacyclins ist aber die breite klinische Anwendung dieser Substanz, bedingt durch ihre geringe Stabilität, eingeschränkt.

1.2 Iloprost

Iloprost ist eine chemisch stabile, synthetische Substanz, die pharmakologisch dem Prostacyclin ähnelt (Prostacyclin-Analogon). Im Gegensatz zur kurzen Halbwertszeit von Prostacyclin (2–3 min) zeichnet sich Iloprost mit einer Halbwertszeit von 20-30 min durch größere Stabilität aus (15). Iloprost wurde 1981 von der Firma Schering AG, Berlin, synthetisiert und findet seither breite klinische Anwendung als Vasodilatator bei peripheren arteriellen Durchblutungsstörungen. Seit den 90er Jahren stellt die Behandlung von pulmonaler Hypertonie mit Hilfe inhalativer bzw. intravenöser Applikation von Iloprost eine neue Therapieform dar (16,17,18,19,20). So hat Iloprost seine Bedeutung als gefäßdilatierendes Medikament längst etabliert. Iloprost als aggregationshemmendes Medikament, insbesondere bei Patienten mit der Anamnese der Heparin-induzierten Thrombozytopenie Typ II (HIT II) könnte ebenfalls eine besondere Bedeutung erlangen. Um die Heparin-induzierte Thrombozytenaggregation bei solchen Patienten während Operationen mit Herz-Lungen-Maschine zu verhindern, wurde die Heparin-Gabe mit der Verabreichung von Iloprost von einer Arbeitsgruppe aus Philadelphia/USA Mitte der 80er Jahre kombiniert (21,22). Über Erfolge mit dieser Methode wurden nicht nur von dieser Arbeitsgruppe (23,24), sondern auch von anderen Arbeitsgruppen in den 80er Jahren, aber auch später berichtet (25,26). Auch in der hiesigen Klinik wird bei Patienten mit HIT II die Kombination von Heparin und Iloprost anderen Antikoagulantien wie z.B. Hirudin bzw. Danaparoid vorgezogen, da erstens die Antikoagulation durch Heparin mit dem konventionellen „Bedside-Test“ ACT (activated clotting time) einfach überwacht werden kann, zweitens der Effekt von Heparin durch Protamin antagonisiert werden kann und schließlich die Gefahr der postoperativen Blutung wegen der kurzen Wirkungsdauer von Iloprost gering ist.

1.3 Fragestellung

Eine wichtige und praktische Frage bei der Anwendung von Iloprost ist, wie hoch Iloprost als Dauerinfusion dosiert werden soll. Iloprost ist ein potenter Vasodilatator, welcher bei hoher Dosierung zu einem massiven Blutdruckabfall führen kann. Um die

Dosis von Iloprost optimal einzustellen, d.h., die gewünschte hemmende Wirkung auf Thrombozyten-Aggregation bei minimalem Blutdruckabfall zu erzielen, wird in der Praxis ein einfaches Monitoring der Thrombozyten-Aggregation benötigt. Die klassische optische (turbimetrische) Aggregometrie ist zwar der „Gold Standard“ für die Thrombozyten-Funktionsdiagnostik, aber sehr aufwendig und zeitraubend. Als intraoperatives Verfahren zur Überwachung der Thrombozytenfunktion ist sie nicht praktikabel. Im Gegensatz zur optischen Aggregometrie sind die Thrombelastographie (TEG), die Vollblut-Impedanz-Aggregometrie und der Platelet-Function-Analyser (PFA-100) einfach und schnell auch intraoperativ durchführbar.

In der vorliegenden Studie sollte untersucht werden, inwieweit die Effekte von Iloprost auf die Thrombozytenfunktion mit der TEG, der Vollblut-Impedanz-Aggregometrie und dem PFA-100-System beurteilt werden können.

2 Methode

2.1 Thrombelastographie

Die Thrombelastographie ist eine bereits 1948 von Hartert (27) in Heidelberg entwickelte Methode zur Vollblut-Gerinnungsanalyse. Sie beruht auf der kontinuierlichen Aufzeichnung der viscoelastischen Eigenschaften des Blutgerinnsels gegen die Zeit. Die Blutprobe wird in die Küvette (k) gegeben. In der Mitte der Küvette befindet sich ein Stempel (s) (Abb. 1). Die Küvette wird nach rechts und links innerhalb bestimmter Freiheitsgrade gedreht. Solange die Blutprobe flüssig ist, bleibt die Drehung der Küvette ungehindert. Wenn sich ein Blutgerinnsel in der Küvette bildet, haftet es den Oberflächen von Stempel und Küvette an. Dies wirkt einer Drehung der Küvette entgegen. Im klassischen TEG-System wird die Drehung der Küvette mit der Bildung des Gerinnsels allmählich zum Stempel übertragen, und die Drehung des Stempels zeichnet das Thrombelastogramm auf. Das in dieser Studie verwendete RoTEG-System (Rotations-Thrombelastographie, Pentapharm GmbH, München) ist eine Weiterentwicklung des klassischen TEG-Systems mit moderner Computertechnik. Am RoTEG-System wird statt Küvette der Stempel in Bewegung gesetzt, so dass die Drehung des Stempels durch Bildung des Gerinnsels zwischen der Küvette und dem Stempel allmählich eingeschränkt wird. Dabei wird die Änderung in der Drehung des Stempels in die TEG-Amplitude, die in der klassischen Methode durch die Drehung der Küvette aufgezeichnet wird, umgerechnet, d.h., eine durch das Gerinnsel ungehinderte Drehung des Stempels entspricht 0 mm Amplitude und ein vollständiges Festhalten des Stempels durch das Gerinnsel 100 mm Amplitude.. In dieser Studie werden vier Parameter vom Thrombelastogramm dargestellt (Abb. 2) (Normbereich wird in Klammern angegeben.):

1. Coagulation Time (CT) (<190sec): Gerinnungszeit: Zeit bis zum Beginn des Gerinnungsprozesses.

2. Clot Formation Time (CFT) (<110sec): Gerinnselbildungszeit: Zeit, die das Gerinnsel benötigt, um ab Beginn der Gerinnselbildung eine definierte Grundfestigkeit (Amplitude = 20mm) zu erreichen.
3. Maximum Clot Firmness (MCF) (53-74mm): Maximale Amplitude des Thrombelastogramms.
4. Alpha-Winkel (70-85°): Ein Maß für die Schnelligkeit der Gerinnselbildung.

Die Blutprobe (300µl) wurde zuerst in die Küvette mit einer elektrisch gesteuerten automatischen Pipette gegeben. Die Wirkung vom Citrat in der Blutprobe wurde dann mit CaCl_2 (0,2 mol/l) (Start TEG, Pentapharm GmbH, 20 µl) aufgehoben. Anschließend wurde der intrinsische Aktivator Thromboplastin-phospholipid (InTEG, Pentapharm GmbH, 20 µl) in die Blutprobe zugegeben, um den Gerinnungsprozess zu beschleunigen. Die Aufzeichnung des Thrombelastogramms erschien dann automatisch auf dem Bildschirm des angeschlossenen Notebooks. Später wurden alle Analysen mit einem Drucker ausgedruckt.

2.2 Vollblut-Impedanz-Aggregometrie

Zur Messung wurde die Blutprobe (500µl Citratblut) mit dem gleichen Volumen von 0,9% NaCl in einer Küvette verdünnt und 5 Minuten lang in der Inkubationskammer des Vollblut-Impedanz-Aggregometers (Modell 592, 2-Kanal-Gerät, Chrono-Log Co, Havertown, PA, U.S.A.) bei 37°C gehalten. Eine aus zwei parallel positionierten Drähten bestehende Elektrode wurde dann in die Blutprobe eingetaucht, was die Anlagerung einer Schicht von Thrombozyten an der Elektrode hervorrufen sollte. Dabei wurde zuerst eine Nullpunkt-Einstellung bei einem kontinuierlichen Stromfluss vorgenommen. Nach einer Nullpunkt-Einstellung zwischen zwei parallel positionierten Drähten wurde die Blutprobe mit dem Reagenz Kollagen (5 µl) stimuliert. Durch Stimulation mit dem Reagenz sollten sich weitere Thrombozyten an die Elektrode anlagern und dadurch kommt es zu einer Widerstandsänderung. Nach Abschluss der

Messung (Dauer 6 min) wird das Ergebnis in Ohm angezeigt (Normbereich 13-23 Ohm).

2.3 Thrombozytenfunktion-Analyse mit PFA-100

Die Thrombozytenfunktion wurde hier mittels Platelet-Function-Analyser (PFA-100, Dade Behring, Schwalbach, Deutschland) aus Citratblut beurteilt. Das PFA-System initiiert die thrombozytenabhängige Hämostase unter hohen Shear-Stress-Bedingungen in vitro. Dazu wird nicht-rekalzifiziertes Citratblut durch eine kleine Öffnung (150 µm in Durchmesser) einer Testkartusche bei einer konstanten Flussrate abgesaugt. Die Hämostase wird durch Beschichtung mit Kollagen-Epinephrin oder Kollagen-ADP im System aktiviert. Das Gerät misst die Verschlusszeit der kleinen Öffnung, welche ein Maß der Thrombozytenfunktion ist. Normale Werte für Epinephrin-PFA betragen 60–175 sec und für ADP-PFA 50–110 sec. Der maximale Wert von PFA-Test ist 300 sec für beide Agonisten. Eine Verschlusszeit länger als 300 sec wird als 300 sec angegeben.

2.4 Blutentnahme

Von 12 gesunden Probanden (Mitarbeiter der Abteilung), die in den letzten 21 Tagen vor der Blutentnahme keine antithrombozytäre Medikation erhielten, wurde durch eine 20-Gauge-Nadel venöses Blut in eine 10ml-Citrat-Monovette und eine 3ml-Citrat-Monovette (Verhältnis von Citrat zu Blut = 1 zu 9) zur Herstellung der Testproben mit verschiedenen Konzentrationen von Iloprost entnommen. Zur PFA-Messung unter Zugabe von Iloprost wurde weiter venöses Blut in sieben 3,8ml-Monovetten mit Citrat/Puffer entnommen. Zusätzlich wurde venöses Blut in eine 3ml-Citrat-Monovette zur Untersuchung des Gerinnungsstatus und in eine EDTA-Monovette zur Bestimmung von Hämoglobin-Wert und der Thrombozytenzahl entnommen.

2.5 Herstellung der Testproben

Sechs verschiedene Konzentrationen von Iloprost wurden durch Verdünnung von Iloprost (20 µg/ml) hergestellt (Tabelle 1). Für Thrombelastographie und Impedanz-Aggregometrie wurden, wie in der Tabelle 2 aufgelistet, 2 ml Citratblut mit verschiedenen verdünnten Iloprost-Lösungen und 0,9% NaCl gemischt. Für die PFA-Zeit-Bestimmung wurden, wie in der Tabelle 3 gezeigt, Iloprost-Lösungen direkt in die 3,8 ml-Monovetten pipettiert. Die Thrombelastographie und Impedanz-Aggregometrie wurden an Blutproben ohne Iloprost und an Blutproben mit 5 verschiedenen Iloprost-Konzentrationen (0,03, 0,12, 0,48, 1,92 und 7,68 ng/ml) vorgenommen. Der therapeutische Dosis-Bereich für fortgeschrittene Thrombangitis obliterans mit schweren Durchblutungsstörungen liegt zwischen 0,5-2,0 ng Iloprost/kg Körpergewicht/min (Fachinformation, Schering AG, Deutschland). Bei intravenöser Verabreichung in einer Dosis von 1 oder 3 ng/kg/min Iloprost wurden Steady-state-Plasmaspiegel von im Mittel 0,046 bzw. 0,135 ng/ml erreicht (28). Wenn Iloprost bei Patienten mit HIT II anlässlich einer Operation unter extrakorporaler Zirkulation (EKZ) verabreicht wurde, um Aggregation der Thrombozyten nach Gabe von Heparin zu verhindern, erreichte der Plasmaspiegel durchschnittlich ca. 2 ng/ml bei einer Infusionsrate von 10 bis 48 ng/kg/min (24). Die in dieser Studie gewählten Iloprost-Konzentrationen decken somit den ganzen therapeutischen Bereich ab. Zusätzlich wurde eine weit über der therapeutischen Konzentration liegende Iloprost-Lösung von 7,68 ng/ml gewählt, da in der Pilotstudie deutlich sichtbare Änderungen in TEG-Parametern erst ab 1,92 ng Iloprost /ml beobachtet wurden. Die PFA-Zeit-Bestimmung wurde zusätzlich an Blutproben mit 0,24 ng Iloprost /ml durchgeführt, da in der Pilot-Studie alle PFA-Werte bei 0,48 ng Iloprost /ml den maximalen Wert 300 sec erreichten. Alle Testproben wurden nach Zugaben von Iloprost-Lösungen gut gemischt, und zwischen 30 Minuten und 2 Stunden nach Fertigstellung der Test-Lösungen wurden alle Messungen gestartet.

2.6 Statistische Analyse

Alle Daten werden als Mittelwert $\pm$ Standardabweichung angegeben. Für den Vergleich der Werte zwischen Blutproben ohne Iloprost und Blutproben mit verschiedenen Iloprost-Konzentrationen wurde der Student-t-test für gepaarte Daten herangezogen. $P < 0,05$ wurde als statistisch signifikant angenommen.

3 Ergebnisse

3.1 Blutbild und Gerinnungsstatus der Probanden

Wie aus der Tabelle 4 ersichtlich, waren die Werte von Blutbild und Gerinnungsstatus aller Probanden im Normbereich.

3.2 Einflüsse von Iloprost auf das Thrombelastogramm

Die Zugabe von Iloprost in die Blutproben hatte zunächst keinen Einfluss auf die vier gebräuchlichen Parameter der TEG: Die Gerinnungszeit (coagulation time – CT), die Gerinnselbildungszeit (clot formation time – CFT), die maximale Amplitude (maximale Gerinnselfestigkeit - maximum clot firmness – MCF) sowie der Alpha-Winkel wurden selbst bei der über dem therapeutischen Bereich liegenden Konzentration (7,68 ng/ml) zuerst nicht beeinflusst (Tabelle 5). Die charakteristische Änderung des Thrombelastogramms war die Erweichung des Gerinnsels, nachdem die Gerinnselfestigkeit das Maximum (MCF) erreicht hatte (Abb. 3). Diese Abnahme der Gerinnselfestigkeit wurde 60 min nach Erreichen der maximalen Gerinnselfestigkeit (MCF) als prozentuelle Änderung von dem MCF-Wert angegeben (Abb. 4). Zwar nimmt auch im normalen Thrombelastogramm die Amplitude nach Erreichen des maximalen Wertes (MCF) langsam ab und betrug 60 min nach Erreichen der maximalen Gerinnselfestigkeit $89 \pm 2\%$ von MCF, jedoch wurde diese Abnahme bei den Konzentrationen über 0,48 ng Iloprost/ml gegenüber dem Ausgangswert ($89 \pm 2\%$) statistisch signifikant grösser. Die Amplitude des Thrombelastogramms 60 min nach Erreichen der maximalen Gerinnselfestigkeit betrug $87 \pm 2\%$ vom MCF bei 0,48 ng Iloprost/ml ($P = 0,013$), $79 \pm 3\%$ von MCF bei 1,92 ng Iloprost/ml ($P = 0,000$) und $73 \pm 4\%$ von MCF bei 7,68 ng Iloprost/ml ($P = 0,000$). Eine exzessive Abnahme der Gerinnselfestigkeit nach Erreichen der maximalen Gerinnselfestigkeit weist normalerweise auf eine Fibrinolyse hin. In dieser Studie wurde jedoch die Abnahme der Gerinnselfestigkeit nicht durch die Fibrinolyse verur-

sacht, da sie durch Zugabe von Aprotinin (20 µl) in die Blutprobe nicht verhindert werden konnte, d.h. Aprotinin hatte keinen Einfluss auf die TEG-Amplitude (Abb. 5). Bei einer Fibrinolyse kann die Abnahme der Gerinnselfestigkeit typischerweise durch Zugabe von Aprotinin aufgehoben werden (Aprotinin TEG – ApTEG – genannt bei RoTEG) (Abb. 6) (29).

3.3 Einflüsse von Iloprost auf die PFA-Zeit

Im Gegensatz zu geringfügigen Änderungen im Thrombelastogramm änderten sich eindeutig die PFA-Zeiten mit zunehmender Konzentration von Iloprost (Tabelle 5). Die Epinephrin-PFA-Zeit betrug ohne Iloprost 137 ± 31 sec und erreichte 300 sec (die maximal messbare Zeit) bei allen Probanden bei der Konzentration von 0,48 ng Iloprost/ml. Allerdings lag die Epinephrin-PFA-Zeit bei zwei Probanden bereits ohne Iloprost über dem Normbereich (180 und 202 sec) (Abb. 7). Die ADP-PFA-Zeit war ohne Iloprost bei allen Probanden im Normbereich und betrug 93 ± 16 sec. Sie erreichte bei der Konzentration von 0,48 ng Iloprost/ml bei 8 von 12 Probanden 300 sec und ab 1,92 ng Iloprost/ml bei allen Probanden 300 sec. Die eindeutigen und statistisch signifikanten Änderungen wurden ab 0,12 ng Iloprost/ml für die Epinephrin-PFA-Zeit und ab 0,24 ng Iloprost/ml für die ADP-PFA-Zeit nachgewiesen.

3.4 Einflüsse von Iloprost auf die Vollblut-Impedanz-Aggregometrie

Die Vollblut-Impedanz-Aggregometrie zeigte bei 0,48 ng Iloprost/ml eine statistisch signifikante Abnahme des Impedanz-Wertes (13 ± 3 gegen 18 ± 2 Ohm, $P = 0,000$) (Tabelle 5). Er lag aber noch im Normbereich. Die Impedanz-Werte nahmen mit den steigenden Konzentrationen von Iloprost weiter ab und lagen bei 1,92 ng Iloprost/ml und 7,68 ng Iloprost/ml bei allen Probanden weit unter dem Normbereich (Abb. 8) (Tabelle 5: 5 ± 2 und 4 ± 2 Ohm).

3.5 Kurzfassung der Ergebnisse

Von den drei in dieser Studie verwendeten Messverfahren wurden die Änderungen der Thrombozytenfunktion unter Iloprost-Wirkung mit dem PFA-100-System am empfindlichsten erfasst. Die Epinephrin-PFA-Zeit verlängerte sich bereits bei 0,12 ng Iloprost/ml eindeutig und hoch signifikant. Sie erreichte die maximal messbare Zeit (300 sec) bei allen Probanden bei der Konzentration von 0,48 ng Iloprost/ml. Die ADP-PFA-Zeit erreichte den maximal messbaren Wert bei 0,48 ng Iloprost/ml bei den meisten Probanden. Die Impedanz-Aggregometrie folgte dem PFA-System. Der Impedanz-Wert verkleinerte sich bei 0,48 ng Iloprost/ml hoch signifikant und zeigte den niedrigsten Wert bei 1,92 ng Iloprost/ml. Im Gegensatz zu den ersteren zwei Messverfahren konnte man zuerst in den gebräuchlichen TEG-Parametern CT (coagulation time), CFT (clot formation time), MCF (maximum clot firmness) und Alpha-Winkel keine Änderung feststellen. Die für Iloprost charakteristische Änderung zeigte sich erst nach Erreichen der maximalen TEG-Amplitude in der Abnahme der Amplitude im weiteren Verlauf. Die TEG-Amplitude, welche 60 min nach Erreichen der maximalen Amplitude gemessen wurde, zeigte bei 1,92 ng Iloprost/ml die hochsignifikante und eindeutige Abnahme, sie erreichte aber bei dieser Konzentration noch nicht den niedrigsten Wert.

4 Diskussion

4.1 Plasmakonzentration von Iloprost in klinischer Anwendung

Den Ergebnissen dieser Studie zufolge erfassen die hier verwendeten drei Messmethoden TEG, Vollblut-Impedanz-Aggregometrie (Reagenz: Collagen 5 µl) und PFA-100-System unterschiedliche Konzentrationsbereiche von Iloprost. Die TEG zeigte eine geringfügige Änderung bei 0,48 ng/kg und eine deutlich erkennbare Änderung erst ab 1,92 ng/kg. Die Impedanz-Aggregometrie zeigte eine deutlich erkennbare Änderung ab 0,48 ng/kg, Epinephrin-PFA ab 0,12 ng/kg und ADP-PFA ab 0,24 ng/kg. Das PFA-100-System reagiert also am empfindlichsten auf Wirkungen von Iloprost in der Blutprobe, und die TEG ist am wenigsten empfindlich. Eine intravenöse Dauerinfusion von Iloprost in einer Dosis von 1 oder 3 ng/kg/min führte zu Steadystate-Plasmaspiegeln von im Mittel 0,046 bzw. 0,136 ng/ml (28). Der klinische Dosisbereich von Iloprost bei Dauerinfusion liegt zwischen 0,5 und 2 ng/kg/min für periphere arterielle Verschlusskrankheit, Thrombangitis obliterans und Raynaud-Syndrom (Fachinformation, Schering AG, Deutschland). Mit der TEG, der Vollblut-Impedanz-Aggregometrie (Collagen 5 µl) und dem ADP-PFA konnte man also in diesem Dosisbereich keine Änderung in der Thrombozytenfunktion feststellen. Um Heparin-induzierte Thrombozyten-Aggregation während EKZ zu verhindern, verabreichten Kappa und Mitarbeiter (23,24) Iloprost bis zu dem Dosisbereich, bei dem die Thrombozyten-Aggregation durch Zusatz des Heparins unter Kontrolle mit turbimetrischer Aggregometrie voll blockiert wurde. Dabei betrug die Plasmakonzentration von Iloprost $2,053 \pm 0,576$ ng/ml. Die TEG zeigte in der vorliegenden Studie erst in diesem Dosisbereich eine deutlich erkennbare Änderung (TEG-Amplitude 60 min nach dem Erreichen der maximalen Amplitude bei 1,92 ng/ml). Antoniou und Mitarbeiter (26) verwendeten den HIPA (Heparin-induced platelet activation)-Test (30,31), um die Iloprost-Infusionsrate zu bestimmen. Sie ermittelten zuerst mittels des *in vitro* HIPA-Tests die Konzentration von Iloprost, bei der die Heparin-induzierte Thrombozyten-Aggregation im Blut des Patienten gehemmt

wird. Auf dieser Basis starteten sie Iloprost-Infusionen mit der jeweiligen ausgetesteten Infusionsrate nach Narkoseeinleitung und prüften mittels des HIPA-Tests, ob die Trombozyten-Aggregation tatsächlich gehemmt wurde. Wenn die Trombozyten-Aggregation noch nicht gehemmt war, erhöhten sie die Infusions-Geschwindigkeit. Erst, wenn der HIPA-Test negativ wurde, verabreichten sie Heparin. Die Iloprost-Infusionsrate lag bei ihrem Bericht von 6 bis 12 ng/kg/min. Wenn man annimmt, dass eine lineare Beziehung zwischen der Infusionsrate und der Plasmakonzentration besteht, ergibt diese Infusionsrate die Plasmakonzentration von etwa 0,27 bis 0,55 ng/ml. In diesem Konzentrationsbereich wurde, zwar statistisch signifikant, jedoch nur eine geringfügige Änderung in der TEG-Amplitude 60 min nach Erreichen der maximalen Amplitude in der vorliegenden Arbeit beobachtet. Demgegenüber waren die Änderungen in der Epinephrin- und ADP-PFA-Zeit eindeutig. Die Vollblut-Impedanz-Aggregometrie zeigte ebenfalls eine erkennbare Änderung.

4.2 Effekte von Prostacyclin auf das Thrombelastogramm

Laut Literatursuche über „PubMed“ und „Medline“ wurde bis jetzt keine Arbeit über Effekte von Iloprost auf das Thrombelastogramm veröffentlicht. Es gibt lediglich einige Berichte über die Wirkung von Prostacyclin auf das Thrombelastogramm in den letzten zwanzig Jahren. Niedrige Konzentrationen von Prostacyclin (0,01, 0,10 und 0,50 ng/ml), die während inhalativer Applikation im systemischen Kreislauf nachweisbar sein können, zeigen bereits hemmende Wirkungen auf die Trombozyten-Aggregation unter der turbimetrischen Aggregometrie, haben aber keine Effekte auf die TEG (32). In einer Studie wurde Prostacyclin in Aerosolform in einer Dosis von 2,5 bzw. 5 µg/min nach Herzoperationen für 6 Stunden verabreicht und Änderungen in der turbimetrischen Aggregometrie bzw. der TEG wurden untersucht (33). Nach 6-stündiger Inhalation war die ADP-induzierte Trombozyten-Aggregation bei beiden Dosierungen gehemmt, während die maximale Amplitude („MCF“ in der vorliegenden Studie) des Thrombelastogramms gar nicht beeinflusst wurde. In dieser Studie war die CT (coagulation time; Zeit bis zum Beginn des Gerinnungsprozess; ein Maß des plasmatischen Gerin-

nungsstatus) unter Gabe von 2,5 bzw. 5 µg Prostacyclin/min nach 4-bzw. 6-stündiger Inhalation verlängert. Eine deutlich erkennbare Änderung in der maximalen Amplitude des Thrombelastogramms wurde mit mehr als 50 ng Prostacyclin/ml (*in vitro* Studie) von Holloway DS und Mitarbeiter beobachtet (34). Charakteristisch für Prostacyclin war dabei, dass die Amplitude nach Erreichen des Maximums, ähnlich wie unter der Wirkung von Iloprost in der vorliegenden Studie, sich reduzierte. Anders als das Thrombelastogramm von Iloprost vergrößerte sich die Amplitude wieder, nachdem sie sich einmal verkleinerte. Die maximale Amplitude der ersten Gerinnselbildung (-befestigung) und die Dauer der Amplituden-Verkleinerung waren abhängig von den Konzentrationen von Prostacyclin. Die maximale Amplitude der zweiten Gerinnselbefestigung war auch unter der Wirkung von Prostacyclin fast genau so groß wie bei der Kontrolle (ohne Prostacyclin). Die Autoren interpretierten die erste Gerinnselbefestigung als Fibrin-Gerinnselbildung mit nur mittelmäßiger Beteiligung der Thrombozyten. Die zweite Phase der Gerinnselbefestigung, d.h. die Vergrößerung der Amplitude nach einmaliger Reduzierung der Amplitude, sollte ein Ausdruck der Erholung der Thrombozytenfunktion nach Aufhebung der Prostacyclin-Aktivität sein. Da Iloprost eine viel längere Wirkungsdauer als Prostacyclin hat, ist es möglich, dass die Erholungsphase unter der Wirkung von Iloprost während der gesamten Aufzeichnung des Thrombelastogramms (ca. 150 min) nicht auftritt.

4.3 Effekte von Iloprost auf das Thrombelastogramm, die Vollblut- Impedanz-Aggregometrie und die PFA-Zeit

Während in der Arbeit von Holloway DS und Mitarbeitern (34) die maximale Amplitude (MCF) der ersten Gerinnselbefestigung unter Prostacyclin dosisabhängig war, gab es keinen Unterschied in den maximalen Amplituden zwischen verschiedenen Iloprost-Konzentrationen in der vorliegenden Arbeit. Deshalb ist es nicht möglich, von den maximalen Amplituden des Thrombelastogramms die Effekte von Iloprost auf die Thrombozytenfunktion zu beurteilen. Dosisabhängige Änderungen unter der Wirkung von Iloprost sind nur in der Abnahme der Amplitude des Thrombelastogramms nach

Erreichen der maximalen Amplitude zu sehen. In der vorliegenden Studie wird die Amplitude 60 min nach Erreichen der maximalen Amplitude zur Datenanalyse angegeben. Eine geringfügige aber statistisch signifikante Änderung der Amplitude war bei 0,48 ng Iloprost/ml zu sehen, d. h. gerade im Dosisbereich, der unter dem Einsatz von Iloprost als Aggregationshemmer bei Patienten mit HIT II in Frage kommt. Die Änderung wurde erst ab 1,92 ng/ml deutlich erkennbar.

Ebenso sind die Effekte von Iloprost in diesem Dosisbereich mit Vollblut-Impedanz-Aggregometrie (Collagen 5 µl) zu beurteilen. Die Vollblut-Impedanz-Aggregometrie hat dabei einen Vorteil gegenüber der TEG: Die Iloprost-Wirkung ist bereits bei 0,48 ng Iloprost/ml deutlich erkennbar, während die Änderung im Thrombelastogramm erst bei 1,92 ng Iloprost/ml deutlich wird. Da aber bei 0,48 ng Iloprost/ml der Impedanz-Wert noch grenzwertig im Normbereich (13 – 23 Ohm) liegt, ist es nötig, Änderungen aus dem Ausgangswert zu berücksichtigen. Das PFA-100-System ist empfindlicher als die Vollblut-Impedanz-Aggregometrie und die TEG, hat aber einen Nachteil gegenüber den letzteren zwei Methoden: Ausgangswerte vom PFA-100-System sind oft nicht im Normbereich, insbesondere bei Patienten, die antithrombozytäre Medikation präoperativ einnehmen (35,36) bzw. bei Patienten mit Aortenstenose (37). Wenn die PFA-Zeit präoperativ verlängert ist, kann die PFA-Zeit bereits bei weit unter dem für Patienten mit HIT II angestrebten Dosisbereich den maximal messbaren Wert (300 sec) erreichen, so dass die Beurteilung von Iloprost-Effekten nicht möglich wird. Im extremen Fall, wenn die PFA-Zeit ohne Iloprost den maximal messbaren Wert beträgt, ist das PFA-100-System ohne Nutzen. Wenn man annimmt, dass die Plasmakonzentration von Iloprost, welche für die Hemmung der Heparin-induzierten Thrombozyten-Aggregation nötig ist, über 0,3 ng/ml liegt, so sollte man zur Beurteilung von Iloprost-Wirkungen in erster Linie die Vollblut-Impedanz-Aggregometrie nutzen. Das PFA-100-System sollte zusätzlich genutzt werden, wenn die PFA-Zeit vor Iloprost-Gabe im Normbereich liegt.

4.4 Vergleich zwischen drei Thrombozytenaggregationshemmern Prostacyclin, Iloprost und Tirofiban

Prostacyclin sollte nach Studien in den 80er Jahren (38,39,40) in einer Infusionsrate von 20 bis 50 ng Prostacyclin/kg/min verabreicht werden, um die Aktivierung der Thrombozyten zu verhindern. Die Dosis von Prostacyclin für die Behandlung von „Raynaud´s disease“ bzw. pulmonaler Hypertension beträgt 7 bis 8 ng/kg/min (41,42). Nach einem Infusionsschema von Prostacyclin zur Verhinderung der Thrombozyten-Aggregation bei Patienten mit HIT II, die sich einem kardialen Eingriff unter EKZ unterziehen, beträgt die Standarddosis 30 ng Prostacyclin/kg/min vor Heparin-Gabe (43). Somit ist der Dosisbereich von Prostacyclin ähnlich oder bis etwa achtmal höher als derjenige von Iloprost. Nach dem Vergleich der Ergebnisse der vorliegenden Studie mit den Literaturangaben über die Dosisbereiche von Prostacyclin ist also die maximale Amplitude (MCF) des Thrombelastogramms für beide Medikamente bei den therapeutisch in Frage kommenden Dosisbereichen zur Beurteilung der Medikamenten-Wirkung kaum von Nutzen, da die MCF-Werte in den Dosisbereichen keine Änderung zeigten. Die für Iloprost charakteristische TEG-Änderung zeigte sich nur in der Abnahme der Amplitude nach Erreichen der maximalen Amplitude. Die Vollblut-Impedanz-Aggregometrie zeigte zwar ab 0,48 ng Iloprost/ml statistisch signifikante Änderungen, aber die Aggregation war selbst bei dem höchsten Dosisbereich bzw. weit über diesem Bereich (1,92 bzw. 7,68 ng/ml) mittels dieser Meßmethode nicht völlig gehemmt. Diese Beobachtungen stehen im Gegensatz zu den Beobachtungen am Glycoprotein IIb/IIIa-Antagonist Tirofiban, bei dem innerhalb des therapeutischen Bereichs der Plasmakonzentration die drei Parameter des Thrombelastogramms CFT (clot formation time), MCF, Alpha-Winkel bzw. Impedanz-Werte der Vollblut-Aggregometrie deutlich sichtbare Änderungen anzeigten und die Aggregation gerade oberhalb des therapeutischen Bereichs völlig gehemmt war (44).

Im Unterschied zu Iloprost und Prostacyclin, die durch die Erhöhung des intrazellulären Gehaltes vom cyclischen Adenosinmonophosphat (cAMP) eine Thrombozyten-Aggregation hemmen, blockiert Tirofiban direkt die Endstrecke der Thrombozyten-Aggrega-

tion, den Fibrinogenrezeptor Glycoprotein-IIb/IIIa-Rezeptor. Die Blockade der Fibrinogenbindungsstelle durch Glycoprotein IIb/IIIa-Rezeptoraantagonisten führt deshalb unabhängig von der Art der Thrombozytenaktivierung zur Hemmung der Aggregation. Antithrombozytäre Substanzen, die vor der Endstrecke der Thrombozytenaggregation bestimmte Aktivierungsschritte der Thrombozyten beeinflussen, wie z.B. Erhöhung der cyclischen Nukleotide, Hemmung der Zyklooxygenase bzw. Interaktion mit Aktivierungsrezeptoren der Thrombozytenoberfläche, können möglicherweise je nach dem zugefügten Aktivator nicht zur klaren Hemmung der Aggregation führen. Acetylsalicylsäure (Aspirin), z.B., entfaltet seine aggregationshemmende Wirkung durch die Hemmung der Zyklooxygenase, die in den Thrombozyten an der Entstehung von Thromboxan A₂ aus der Arachidonsäure beteiligt ist. Thromboxan A₂ wirkt aggregationsfördernd und vasokonstriktorisch. Die Hemmung der Thromboxan A₂-Produktion durch Acetylsalicylsäure führt deshalb zur Hemmung der Aggregation. Die aggregationshemmende Wirkung der Acetylsalicylsäure lässt sich aber mittels der TEG nicht erfassen (45). Stattdessen hat die Epinephrin-PFA-Zeit eine hohe Sensitivität für Acetylsalicylsäure (35,46).

4.5 Vergleich zwischen drei Messverfahren Thrombelastographie, Vollblut-Impedanz-Aggregometrie und PFA-100-System

Das PFA-100-System erfasst die Thrombozytenfunktion unter hoher Shear-Stress-Bedingung (Schubspannung), d.h. unter der Bedingung des arteriellen Blutflusses und ist von verschiedenen Einflussfaktoren, u.a. vom von Willebrand-Faktor stark abhängig (47,48,49). Die Aggregometrie erfasst die Thrombozytenfunktion ohne Shear-Stress unter der Bedingung des venösen Blutflusses. Die maximale Amplitude (MCF) des Thrombelastogramms ist Ausdruck der Interaktion von Thrombozyten und plasmatischen Gerinnungsfaktoren, insbesondere Fibrinogen (50). So wird die Thrombozytenfunktion mit verschiedenen Methoden aus verschiedenen Aspekten analysiert. Die Beobachtungen in der vorliegenden Studie, dass die hier verwendeten drei Messverfahren unterschiedliche Sensitivitäten für die aggregationshemmenden Wirkungen von

Iloprost aufweisen, sind deshalb nicht überraschend. Das PFA-100-System ist am empfindlichsten auf Wirkungen von Iloprost und die TEG am wenigsten aussagefähig. Um die Wirkungen von Iloprost im für HIT II-Patienten angestrebten Dosisbereich schnell zu beurteilen, sollten in erster Linie die Vollblut-Impedanz-Aggregometrie und zusätzlich das PFA-100-System verwendet werden.

5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurde die Frage gestellt, inwieweit die Effekte von Iloprost auf die Thrombozytenfunktion mit der Thrombelastographie (TEG), der Vollblut-Impedanz-Aggregometrie und dem PFA-100-System beurteilt werden können. Iloprost ist eine chemisch stabile, synthetische Substanz, die pharmakologisch dem Prostacyclin ähnelt (Prostacyclin-Analogon). Es wirkt aggregationshemmend auf Thrombozyten und vasodilatatorisch. Iloprost findet u.a. Anwendung bei Patienten mit der Anamnese der Heparin-induzierten Thrombozytopenie Typ II (HIT II), die sich einer Operation unter Zuhilfenahme der Herz-Lungen-Maschine unterziehen. Iloprost wird solchen Patienten hochdosiert infundiert, um die durch Heparin-Gabe hervorgerufene Thrombozyten-Aggregation zu verhindern. Eine wichtige und praktische Frage ist dabei, wie hoch Iloprost dosiert werden soll. Da Iloprost bei hoher Dosierung zu einem massiven systemischen Druckabfall führen kann, sollte die Dosis von Iloprost optimal eingestellt werden. Dazu wird ein einfacher „Bedside-Test“ der Thrombozytenfunktion benötigt.

Die Ergebnisse stammen von 12 gesunden Probanden, die in den letzten 21 Tagen vor der Blutentnahme keine antithrombozytäre Medikation erhielten. Für die TEG, die Vollblut-Impedanz-Aggregometrie und das PFA-100-System wurden Blutproben mit verschiedenen Iloprost-Konzentrationen, die den gesamten therapeutischen Dosisbereich abdecken (0, 0,03, 0,12, 0,48 und 1,92 ng/ml) und ferner eine zusätzliche Blutprobe mit einer weit über dem therapeutischen Bereich liegenden Konzentration von Iloprost (7,68 ng/ml) hergestellt. Für das PFA-100-System wurde zusätzlich eine Blutprobe zu 0,24 ng Iloprost/ml vorbereitet. Der Ablauf der TEG wurde durch den intrinsischen Aktivator beschleunigt. Zur Vollblut-Impedanz-Aggregometrie wurden die Blutproben mit Kollagen (5 µl) stimuliert. Die thrombozytenabhängige Hämostase unter Shear-Stress-Bedingungen (PFA-100) wurde durch Kollagen-Epinephrin oder Kollagen-ADP im System aktiviert.

Von den drei in dieser Studie verwendeten Messverfahren wurden die Änderungen der Thrombozytenfunktion unter Iloprost-Wirkungen durch das PFA-System am empfind-

lichsten erfasst. Die Epinephrin-PFA-Zeit verlängerte sich bereits bei 0,12 ng Iloprost/ml eindeutig und hoch signifikant. Sie erreichte die maximal messbare Zeit (300 sec) bei allen Probanden bei der Konzentration von 0,48 ng Iloprost/ml. Die ADP-PFA-Zeit war ab 0,24 ng Iloprost/ml eindeutig verlängert und erreichte den maximal messbaren Wert bei 0,48 ng Iloprost/ml bei den meisten Probanden. Die Vollblut-Impedanz-Aggregometrie folgte in der Empfindlichkeit dem PFA-100-System. Der Impedanz-Wert verkleinerte sich bei 0,48 ng Iloprost/ml hoch signifikant und zeigte den niedrigsten Wert bei 1,92 ng Iloprost/ml. Im Gegensatz zu den ersteren zwei Messverfahren konnte man in den gebräuchlichen TEG-Parametern, der Gerinnungszeit (coagulation time – CT), der Gerinnselbildungszeit (clot formation time – CFT), der maximalen Amplitude (maximale Gerinnselfestigkeit - maximum clot firmness – MCF) sowie dem Alpha-Winkel, keine Änderung feststellen. Erst nach Erreichen der maximalen TEG-Amplitude zeigte sich die für Iloprost charakteristische Änderung in der Abnahme der Amplitude. Die TEG-Amplitude, die 60 min nach Erreichen der maximalen Amplitude gemessen wurde, zeigte bei 0,48 ng Iloprost/ml eine geringfügige aber statistisch signifikante Änderung und erst ab 1,92 ng/ml die hochsignifikante und eindeutige Abnahme, sie erreichte aber bei dieser Konzentration noch nicht den niedrigsten Wert.

Nach den Ergebnissen dieser Studie sollten in erster Linie die Vollblut-Impedanz-Aggregometrie und zusätzlich das PFA-100-System verwendet werden, um die Wirkungen von Iloprost im für HIT II-Patienten angestrebten Dosisbereich beurteilen und die Dosis gegebenenfalls korrigieren zu können.

6 Literaturverzeichnis

1. Goldblatt MW. A depressor substance in seminal fluid. (presented at the 159th meeting of the Biochemical Society in London, December 15, 1933). *Chem & Ind (London)* 1933;52:1056-57
2. Euler von US. Zur Kenntnis der pharmakologischen Wirkungen von Nativsekreten und Extrakten männlicher sexuellen Geschlechtsdrüsen. *Arch Exp Pathol* 1934;75:78-84
3. Euler von US. Über die spezifische blutdrucksenkende Substanz des menschlichen Prostata- und Samenblasensekretes. *Klin Wochenschr* 1935;14:1182-1183
4. Bergström S, Rhyhage R, Samuelsson B, Sjövall J. Prostaglandins and related factors. *J Biol Chem* 1963;238:3555-3564
5. Gryglewski RJ, Bunting S, Moncada S, Flower RJ, Vane JR. Arterial walls are protected against deposition of platelet thrombi by a substance (prostaglandin x) which they make from prostaglandin endoperoxides. *Prostaglandins* 1976;12:685-713
6. Bunting S, Gryglewski RJ, Moncada S, Vane JR. Arterial walls generate from prostaglandin endoperoxides a substance (Prostaglandin x) which relaxes strips of mesenteric and coeliac arteries and inhibits platelet aggregation. *Prostaglandins* 1976;12:897-915
7. Moncada S, Gryglewski RJ, Bunting S, Vane JR. An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature* 1976;263:663-665
8. Kerins DM, Murray R, Fitzgerald GA. Prostacyclin and prostaglandin E₁: molecular mechanisms and therapeutic utility. *Prog Hemost Thromb* 1991;10:307-337
9. Higenbottam T, Wheeldon D, Wells F, Wallwork J. Long-term treatment of primary pulmonary hypertension with continuous intravenous epoprostenol (prostacyclin). *Lancet* 1984;1:1046-1047
10. Barst RJ, Rubin LJ, Long WA, et al. A comparison of continuous intravenous epoprostenol (prostacyclin) with conventional therapy for primary pulmonary hypertension. *N Eng J Med* 1996;334:296-301
11. McLaughlin VV, Genthner DE, Panella MM, Rich S. Reduction in pulmonary vascular resistance with long-term epoprostenol (prostacyclin) therapy in primary pulmonary hypertension. *N Eng J Med* 1998;338:273-277
12. Ropsenzweig EB, Kerstein D, Barst RJ. Long-term prostacyclin for pulmonary hypertension with associated congenital heart defects. *Circulation* 1999;99:1858-1865

13. Friedman R, Mears JG, Barst RJ. Continuous infusion of prostacyclin normalizes plasma markers of endothelial cell injury and platelet aggregation in primary pulmonary hypertension. *Circulation* 1997;96:2782-2784
14. Nakonechnicov S, Gabbasov Z, Chazova I, Popov E, Belenkov Y. Platelet aggregation in patients with primary pulmonary hypertension. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1996;7:225-227
15. Grant SM, Goa KL. Iloprost: a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in peripheral vascular disease, myocardial ischaemia and extracorporeal circulation procedures. *Drugs* 1992;43:889-924
16. Olschewski H, Walrmath D, Schermuly R, Ghofrani A, Grimminger F, Seeger W. Aerosolised prostacyclin and iloprost in severe pulmonary hypertension. *Ann Intern Med* 1996;124:820-824
17. Ewert R, Oppitz C, Wensel R, Winkler J, Höffken G, Frank W, Berger F, Kleber F-X, Hetzer R. Iloprost als inhalative bzw. intravenöse Langzeitbehandlung von Patienten mit primärer pulmonaler Hypertonie. *Z.Kardiol* 2000;89:987-999
18. Hoepfer MM, Schwarze M, Ehlerding S, Adler-Schuermeier A, Spiekerkoetter E, Niedermeyer J, Hamm M, Fabel H. Long-term treatment of primary pulmonary hypertension with aerosolized iloprost, a prostacyclin analogue. *N Eng J Med* 2000;342:1866-1870
19. Langer F, Wendler O, Wilhelm W, Tscholl D, Schäfers H-J. Treatment of a case of acute right heart failure by inhalation of iloprost, a long-acting prostacyclin analogue. *Eur J Anaesth* 2001;18:770-773
20. Olschewski H, et al. (the aerosolised iloprost randomised study group). Inhaled iloprost for severe pulmonary hypertension. *N Eng J Med* 2002;347:322-329
21. Kappa JR, Horn MK, McIntosh CL, Fisher CA, Ellison N, Addonizio VP Jr. Iloprost (ZK36374), a new prostacyclin analogue, permits open cardiac surgery in patients with heparin-induced thrombocytopenia. *Surg Forum* 1985;36:285-286
22. Ellison N, Kappa JR, Fisher CA, Addonizio VP Jr. Extracorporeal circulation in a patient with heparin-induced thrombocytopenia [Letter]. *Anesthesiology* 1985;63:336-337
23. Kappa JR, Horn MK, Fisher CA, Cottrell ED, Ellison N, Addonizio VP Jr. Efficacy of iloprost (ZK36374) versus aspirin in preventing heparin-induced platelet activation during cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1987;94:405-413
24. Kappa JR, Fisher CA, Todd B, Stenach N, Bell P, Campbell F, Ellison N, Addonizio VP. Intraoperative management of patients with heparin-induced thrombocytopenia. *Ann Thorac Surg* 1990;49:714-723
25. Kraenzler EJ, Starr NJ. Heparin-associated thrombocytopenia: Management of patients for open heart surgery. Case reports describing the use of iloprost. *Anesthesiology* 1988;69:964-967

26. Antoniou T, Kapetanakis EI, Theodoraki K, Relia P, Thanopoulos A, Kotiou M, Zarkalis D, Alivizatos P. Cardiac surgery in patients with heparin-induced thrombocytopenia using preoperatively determined dosages of iloprost. *Heart Surg Forum* 2002;5:354-357
27. Hartert H: Blutgerinnungsstudien mit der Thrombelastographie, einem neuen Untersuchungsverfahren. *Klin Wochenschr* 1948;26:577-583
28. Krause W, Krais Th. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the prostacyclin analogue iloprost in man. *Eur J Clin Pharmacol* 1986;30:61-68
29. Calatzis An, Fritzsche P, Kling M, Calatzis Al, Mielke L. A new technique for fast and specific intraoperative coagulation monitoring. *Eur Surg Res* 1996;28(Suppl 1):47-48
30. Greinacher A, Michels I, Kiefel V, Müller-Eckhardt C. A rapid and sensitive test for diagnosing heparin-associated thrombocytopenia. *Thromb Haemost* 1991;66:734-736
31. Eichler P, Budde U, Haas S, Kroll H, Loreth RM, Meyer O, Pachmann U, Pötzsch B, Schabel A, Albrecht D, Greinacher A. First workshop for detection of heparin-induced antibodies: validation of the heparin-induced platelet activation test (HIPA) in comparison with a PF4/heparin ELISA. *Thromb Haemost* 1999;81:625-629
32. Heerden van PV, Gibbs NM, Michalopoulos N. Effect of low concentrations of prostacyclin on platelet function in vitro. *Anaesth Intens Care* 1997;25:343-346
33. Haraldsson A, Kieler-Jensen N, Wadenvik H, Ricksten S-E. Inhaled prostacyclin and platelet function after cardiac surgery and cardiopulmonary bypass. *Intensiv Care Med* 2000;26:188-194
34. Holloway DS, Zuckerman L, Vagher JP, Mockros LF. The effects of prostacyclin on the coagulation of whole blood. *Thromb Haemost* 1983;50:671-675
35. Homoncik M, Jilma B, Hergovich N, Stohlawetz P, Panzer S, Speiser W. Monitoring of aspirin (ASA) pharmacodynamics with the platelet function analyser PFA-100^R. *Thromb Haemost* 2000;83:316-321
36. Gibbs NM, Weightman WM, Thackray NM, Michalopoulos N, Weidmann C. The effects of recent aspirin ingestion on platelet function in cardiac surgical patients. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2001;15:55-59
37. Vincetelli A, Susen S, Tourneau TL, Six I, Fabre O, Juthier F, Bauters A, Decoene Ch, Goudemand J, Pat A, Jude B. Acquired von Willebrand syndrome in aortic stenosis. *N Eng J Med* 2003;349:343-349
38. Aren C, Feddersen K, Radegran K. Effects of prostacyclin infusion on platelet activation and postoperative blood loss in coronary bypass. *Ann Thorac Surg* 1983;36:49-54
39. Heinrich D, Schleussner E, Wagner WL, Sellmann-Richter R, Hehrlein FW. Prostacyclin in aortocoronary bypass surgery: a double-blind, placebo-controlled study. *Thromb Res* 1983;32:409-426

40. Ede RJ, Hughes RD, Williams R. Use of prostacyclin in extracorporeal circulation. *Int J Art Organs* 1985;8:297-300
41. Gryglewski RJ. Prostacyclin. Pharmacology and clinical trials. *Inter Angiol* 1984;3:89-97
42. Rubin LJ, Mendoza J, Hood M, McGoon M, Barst R, Williams WB, Diehl JH, Crow J, Long W. Treatment of primary pulmonary hypertension with continuous intravenous prostacyclin (epoprostenol): results of a randomized trial. *Ann Intern Med* 1990;112:485-491
43. Aouifi A, Blanc P, Piriou V, Bastien OH, Efrench P, Hanss M, Lehot J-J. Cardiac surgery with cardiopulmonary bypass in patients with type II heparin-induced thrombocytopenia. *Ann Thorac Surg* 2001;71:678-683
44. Niggemeier MF. Diagnostik der Thrombozytenfunktion unter Glykoprotein-IIb/IIIa-Rezeptorantagonisten Tirofiban. Vergleich der Point of Care Verfahren Thromboelastographie, Impedanzaggregometrie und In Vitro Closure Time (PFA-100) bei verschiedenen Tirofibankonzentrationen. Dissertation, Düsseldorf (in Vorbereitung)
45. Maess M, Nugel E. Thrombelastogramm und Aggregationshemmer. *Z. Exper. Chirurg* 1976;9:36-40
46. Mammen EF, Comp PC, Gosselin R, Greenberg C, Hoots WK, Kessler CM, Larkin EC, Liles D, Nugent DJ. PFA-100TM system: a new method for assessment of platelet dysfunction. *Semin Thromb Hemostas* 1998;24:195-202
47. Fressinaud E, Veyradier A, Truchaud F, Martin I, Boyer-Neumann C, Trossaert M, Meyer D. Screening for von Willebrand disease with a new analyzer using high shear stress: a study of 60 cases. *Blood* 1998;4:1325-1331
48. Cattaneo M, Federici AB, Lecchi A, Agati B, Lombardi R, Stabile F, Bucciarelli P. Evaluation of the PFA-100 system in the diagnosis and therapeutic monitoring of patients with von Willebrand disease. *Thromb Haemost* 1999;82:35-39
49. Homoncik M, Blann AD, Hollenstein U, Pernerstorper T, Eichler H-G, Jilma B. Systemic inflammation increases shear stress-induced platelet plug formation measured by the PFA-100. *Br J Haematol* 2000;111:1250-1252
50. Traverso CI, Caprini JA, Arcelus JI. The normal thromboelastogram and its interpretation. *Semin Thromb Hemostas* 1995;21(Suppl.4):7-13

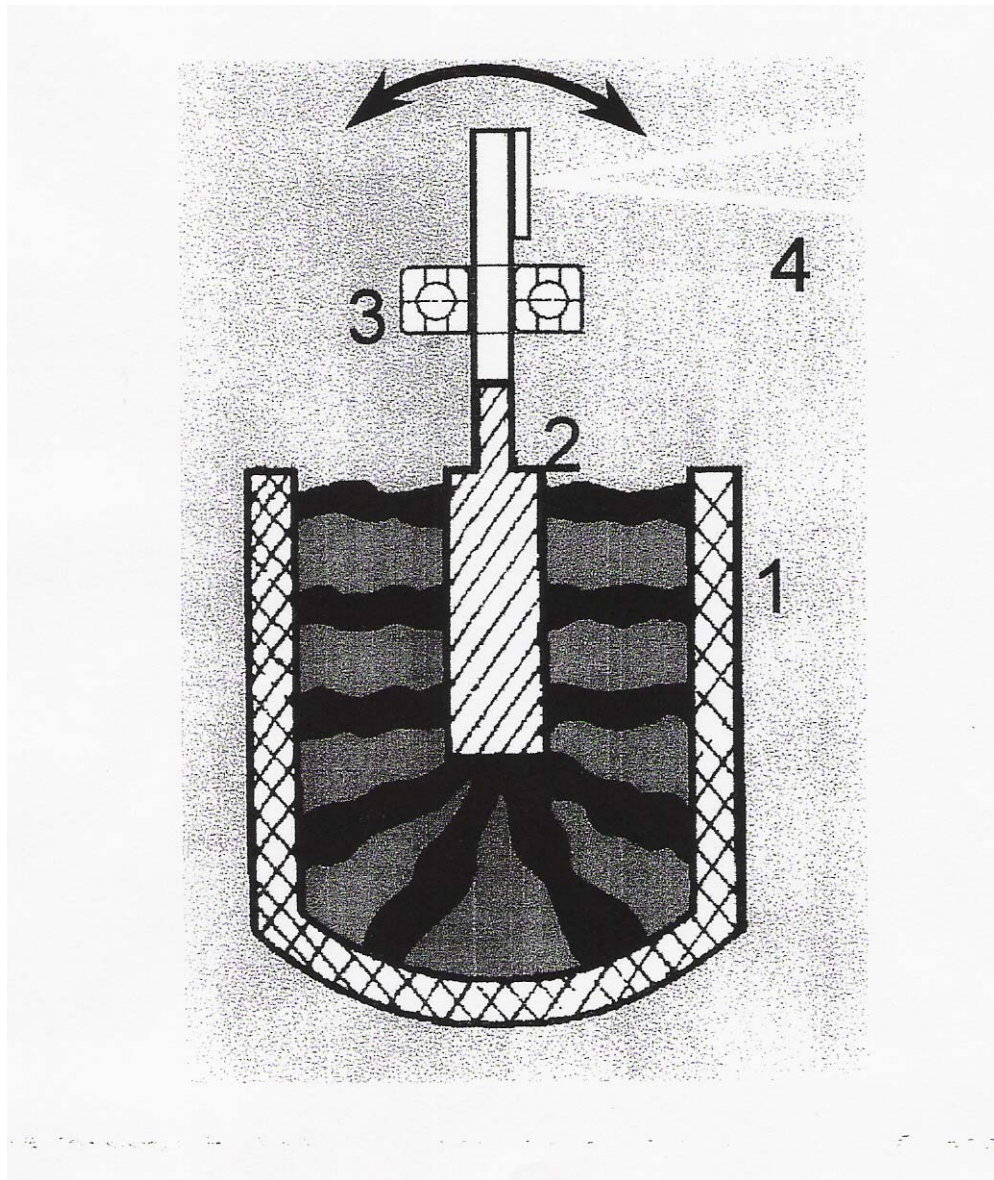


Abbildung 1. Küvette und Stempel.

1. Küvette, 2. Stempel, 3. Kugellager, 4. Optisches Signal

Die Probe (Citratblut), CaCl_2 und der intrinsische Aktivator (Thromboplastin-phospholipid) werden in die Küvette (1) gegeben. In die Probe taucht der Stempel (2) ein, der um 4,75 Grad nach rechts und links gedreht wird. Die Drehung des Stempels, die durch Bildung des Gerinnsels allmählich eingeschränkt wird, wird optisch erfasst (4) und in die TEG-Amplitude umgerechnet.

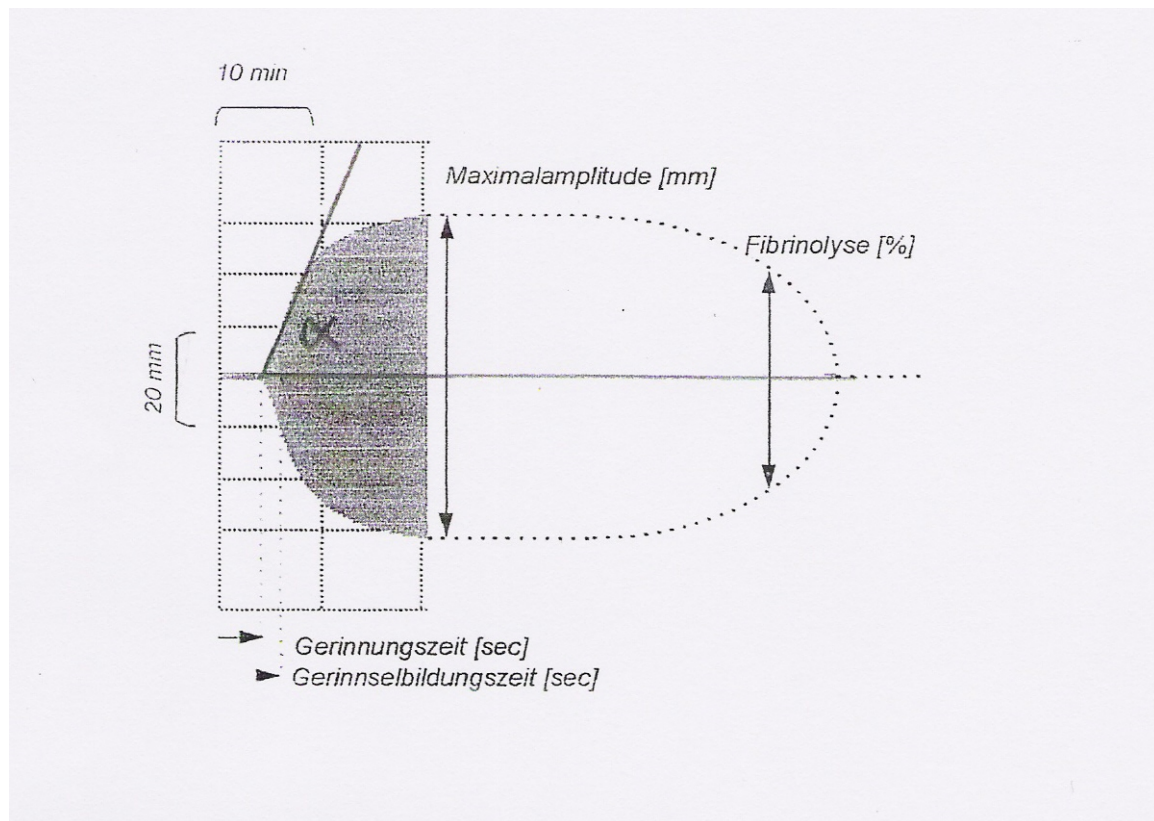


Abbildung 2. Schematische Darstellung eines Thrombelastogramms.

Gerinnungszeit: Coagulation Time (CT). Zeit bis zum Beginn des Gerinnungsprozesses.

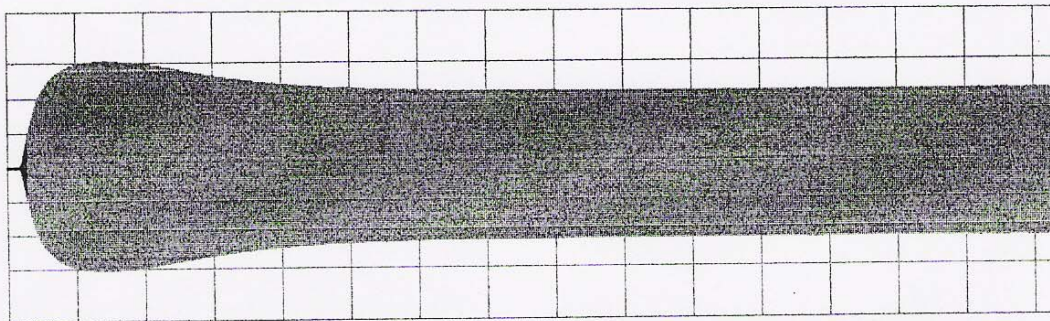
Gerinnselbildungszeit: Clot Formation Time (CFT). Zeit, die das Gerinnsel benötigt, um ab Beginn der Gerinnselbildung eine definierte Grundfestigkeit (Amplitude = 20mm) zu erreichen.

Maximalamplitude: Maximum Clot Firmness (MCF).

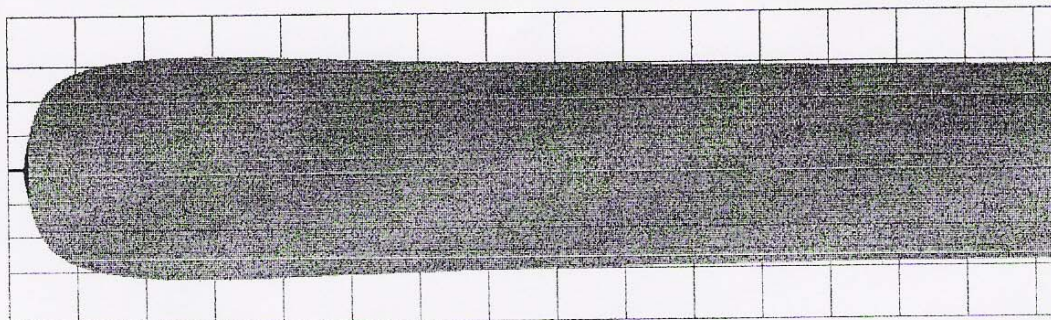
Alpha: Alpha-Winkel. Ein Maß für die Schnelligkeit der Gerinnselbildung.

Fibrinolyse (%): Prozentuelle Angabe der TEG-Amplitude im Vergleich zur maximalen Amplitude.

roTEG Advanced Coagulation Analysis
AnEsthesie BO



1381: 30.10.03 13:22:41 : INTEG: Iloprost 7,68 (1)
 CT: 112s alp: 78° A10: 61mm A25: 55mm LI45: 74%
 CFT: 59s ML: 30% A15: 61mm A30: 51mm LI60: 71%
 MCF: 62mm A5: 53mm A20: 58mm LI30: 83%



1382: 30.10.03 13:23:59 : INTEG: Iloprost 0,0 (2)
 CT: 129s alp: 80° A10: 59mm A25: 65mm LI45: 96%
 CFT: 52s ML: 14% A15: 63mm A30: 65mm LI60: 93%
 MCF: 66mm A5: 50mm A20: 64mm LI30: 98%

CT: coagulation time (r) CFT: clot formation time (k)
 MCF: maximum clot firmness (MA) MCE: maximum clot elasticity
 A<x>: amplitude at <x> minutes after CT

Abbildung 3. Thrombelastogramme unter Iloprost-Wirkung und ohne Iloprost. Das obere Bild zeigt die charakteristische Änderung des Thrombelastogramms unter Iloprost (7,68 ng/ml)-Wirkung. Nachdem die Gerinnselfestigkeit das Maximum (MCF) erreicht hat, erweichte das Gerinnsel. Die Amplitude war in diesem Beispiel 71% des MCF-Wertes 60 min nach Erreichen des Maximums (LI60: 71%). Das untere Bild zeigt das Thrombelastogramm ohne Iloprost. Eine geringfügige Erweichung des Gerinnsels ist auch im normalen Thrombelastogramm zu sehen. Die Amplitude war in diesem Beispiel 93% des MCF-Wertes 60 min nach Erreichen des Maximums (LI60: 93%).

CT: coagulation time, CFT: clot formation time, MCF: maximum clot firmness, alp: alpha-angle, ML: maximum lysis, prozentueller Anteil der Differenz zwischen der maximalen Amplitude (MCF) und der kleinsten nach Erreichen der MCF ermittelten Amplitude, A(x): Amplitude (x) Minuten ab Beginn der Gerinnselfestigung, LI (x): clot lysis index, prozentueller Anteil der Amplitude zum Zeitpunkt (x) Minuten nach Erreichen der MCF von der MCF.

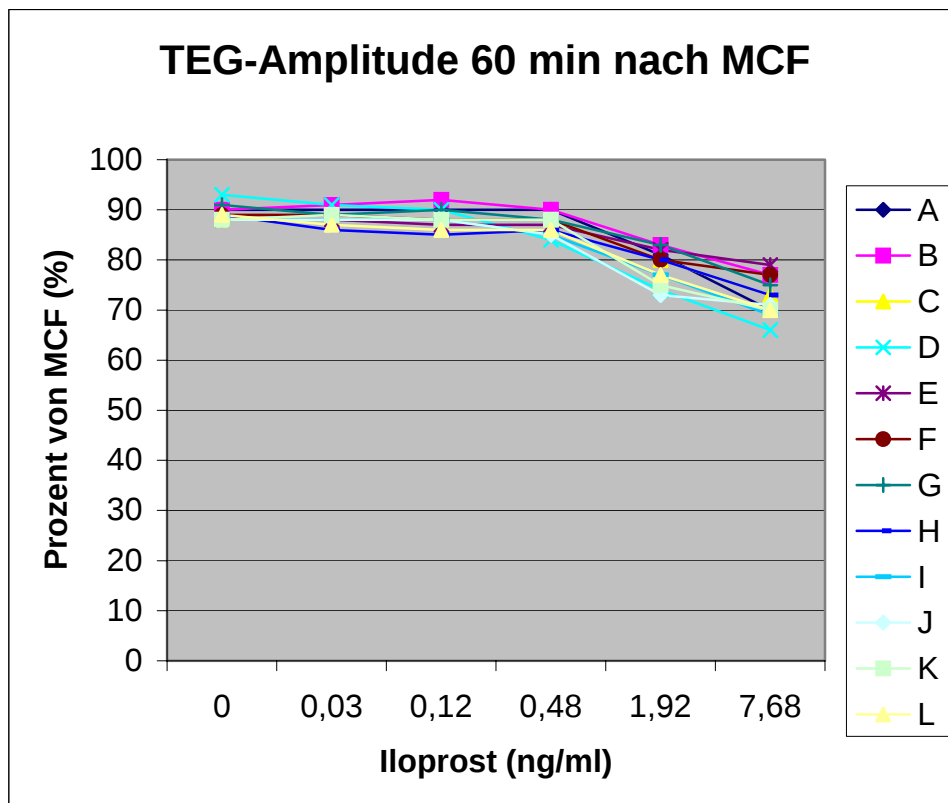


Abbildung 4. Effekte von Iloprost mit steigenden Konzentrationen auf die Thrombelastogramm-Amplitude. Die Erweichung des Gerinnsels, nachdem die Gerinnselfestigkeit das Maximum (MCF) erreicht hat, wurde 60 min nach Erreichen der maximalen Gerinnselfestigkeit als prozentuelle Änderung von dem MCF-Wert angegeben. Bei allen Probanden nahm die Amplitude 60 min nach Erreichen der maximalen Gerinnselfestigkeit mit steigenden Konzentrationen von Iloprost ab.

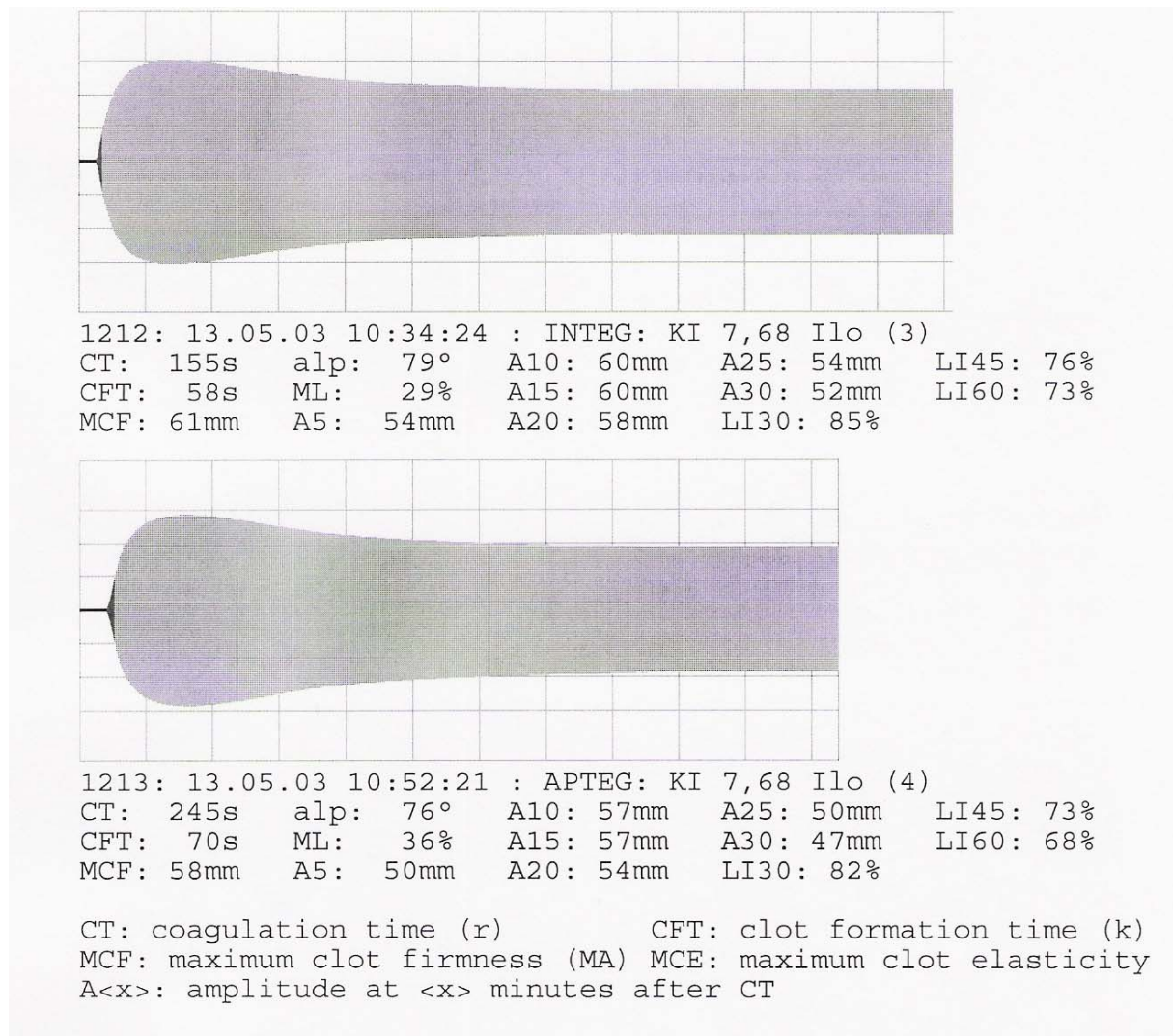


Abbildung 5. Thrombelastogramme unter Iloprost-Wirkung bzw. unter Iloprost und Aprotinin-Wirkung. Das obere Bild zeigt ein typisches Thrombelastogramm unter Iloprost (7,68 ng/ml)-Wirkung. Um zu prüfen, ob die Abnahme der Gerinnselfestigkeit nach Erreichen des Maximums (MCF) durch eine Fibrinolyse verursacht wurde, wurde Aprotinin (20 µl) in die Blutprobe zusätzlich gegeben. Wie das untere Thrombelastogramm (ApTEG) zeigt, wurde die Abnahme der Amplitude dadurch nicht verhindert. CT: coagulation time, CFT: clot formation time, MCF: maximum clot firmness, alp: alpha-angle, ML: maximum lysis, prozentueller Anteil der Differenz zwischen der maximalen Amplitude (MCF) und der kleinsten nach Erreichen der MCF ermittelten Amplitude, A(x): Amplitude (x) Minuten ab Beginn der Gerinnselfbildung, LI (x): clot lysis index, prozentueller Anteil der Amplitude zum Zeitpunkt (x) Minuten nach Erreichen der MCF von der MCF.

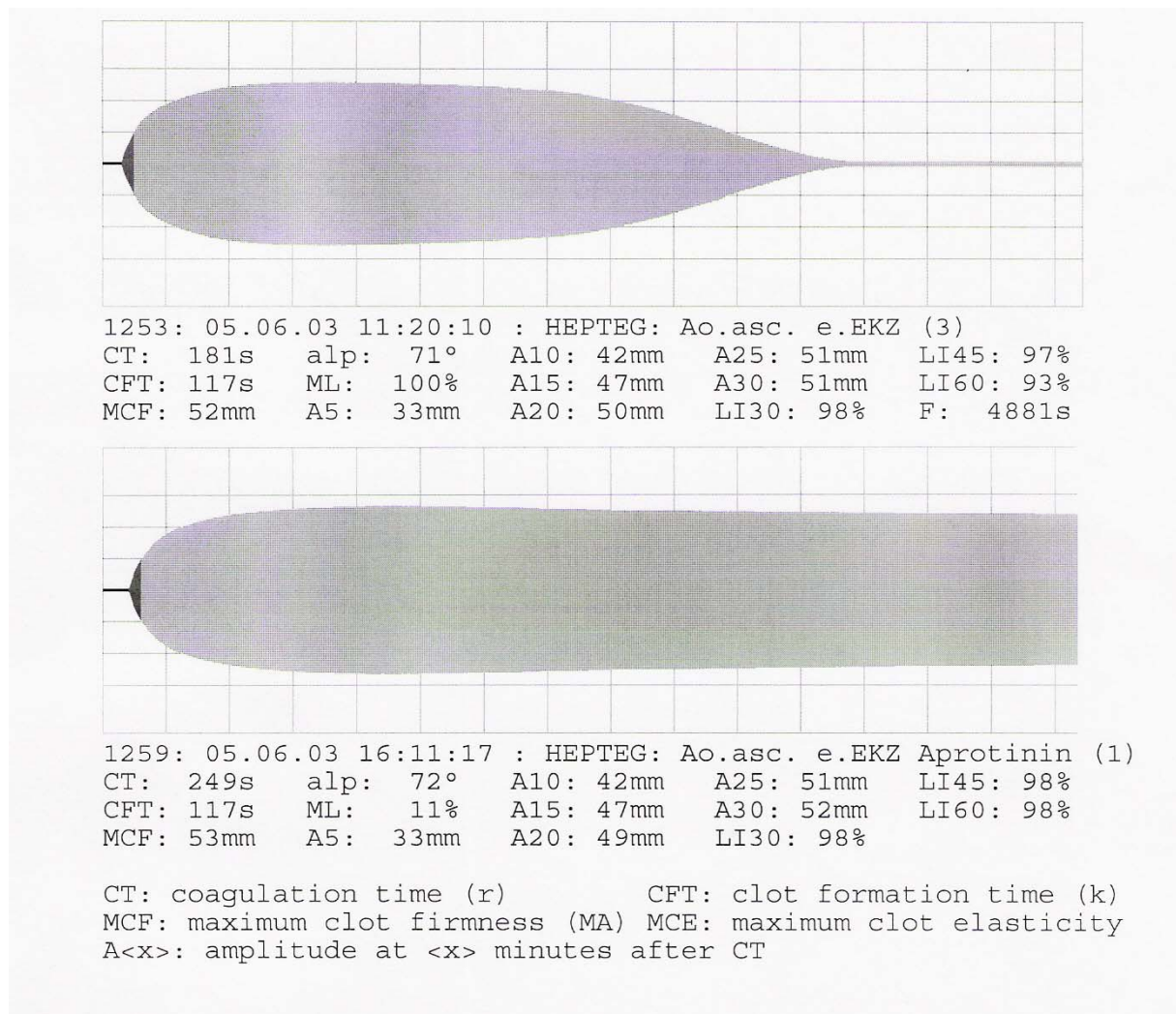


Abbildung 6. Thrombelastogramm einer Fibrinolyse. Das obere Thrombelastogramm zeigt ein Beispiel der Fibrinolyse, die bei einem Patienten während der extrakorporalen Zirkulation beobachtet wurde. Das untere Bild (ApTEG) zeigt das Thrombelastogramm der gleichen Blutprobe, in die Aprotinin (20 µl) zugemischt wurde. Wie das untere Thrombelastogramm zeigt, wird die Auflösung des Gerinnsels durch Zumischung von Aprotinin verhindert.

CT: coagulation time, CFT: clot formation time, MCF: maximum clot firmness, alp: alpha-angle, ML: maximum lysis, prozentueller Anteil der Differenz zwischen der maximalen Amplitude (MCF) und der kleinsten nach Erreichen der MCF ermittelten Amplitude, A(x): Amplitude (x) Minuten ab Beginn der Gerinnungsbildung, LI (x): clot lysis index, prozentueller Anteil der Amplitude zum Zeitpunkt (x) Minuten nach Erreichen der MCF von der MCF, F: Zeitspanne von Erreichen der MCF bis die Amplitude unter 2 mm sinkt, d.h. bis sich das Gerinnsel wieder vollständig aufgelöst hat.

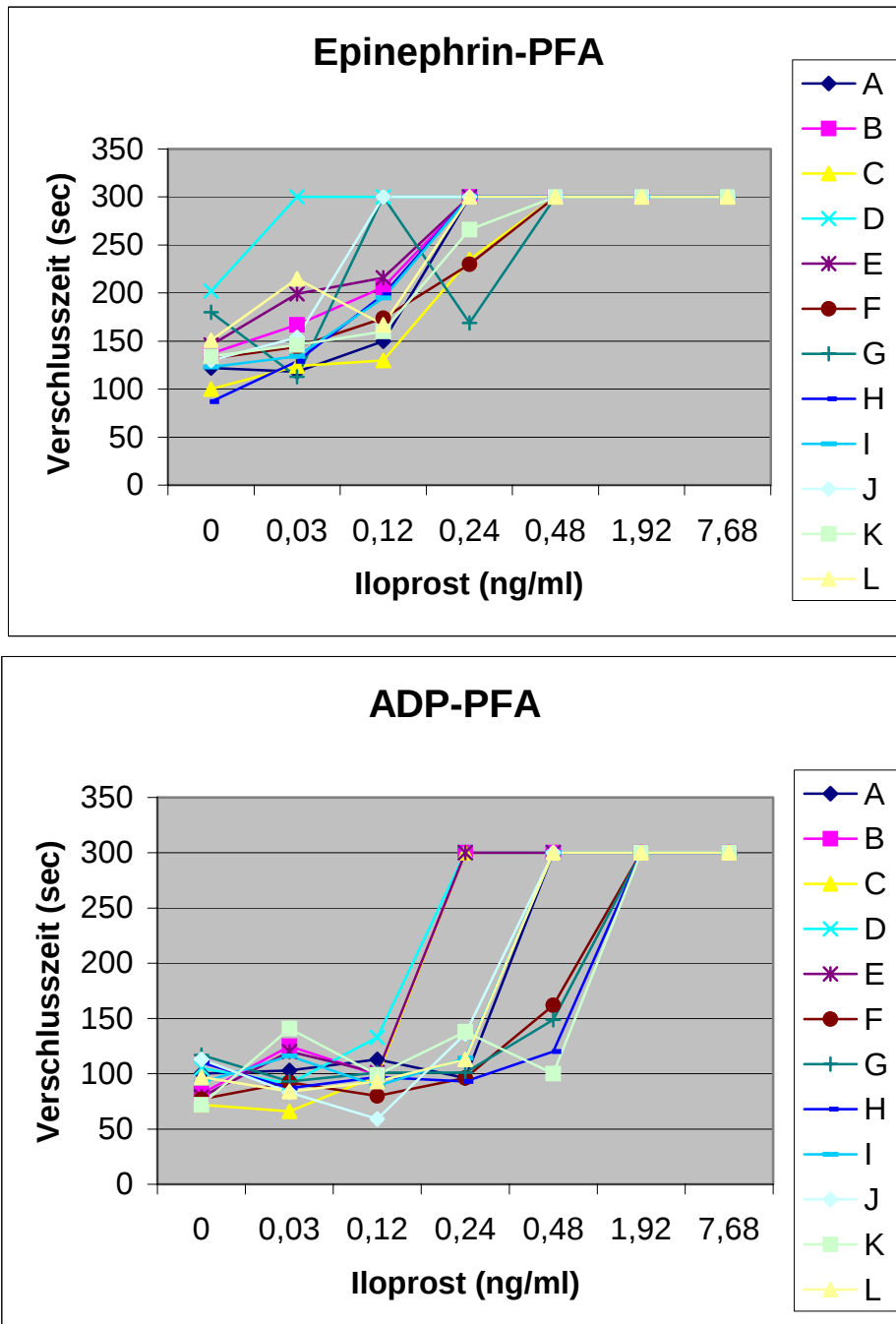


Abbildung 7. Effekte von Iloprost mit steigenden Konzentrationen auf die PFA-Zeit. Die Epinephrin-PFA-Zeit lag bei zwei Probanden bereits ohne Iloprost über dem Normbereich (60–175 sec). Die ADP-PFA-Zeit war ohne Iloprost bei allen Probanden im Normbereich (50–110 sec). Die Epinephrin-PFA-Zeit erreichte 300 sec (die maximale messbare Zeit) an allen Probanden bei der Konzentration von 0,48 ng Iloprost/ml. Die ADP-PFA-Zeit erreichte bei der Konzentration von 0,48 ng Iloprost/ml bei 8 von 12 Probanden 300 sec und ab 1,92 ng Iloprost/ml bei allen Probanden 300 sec.

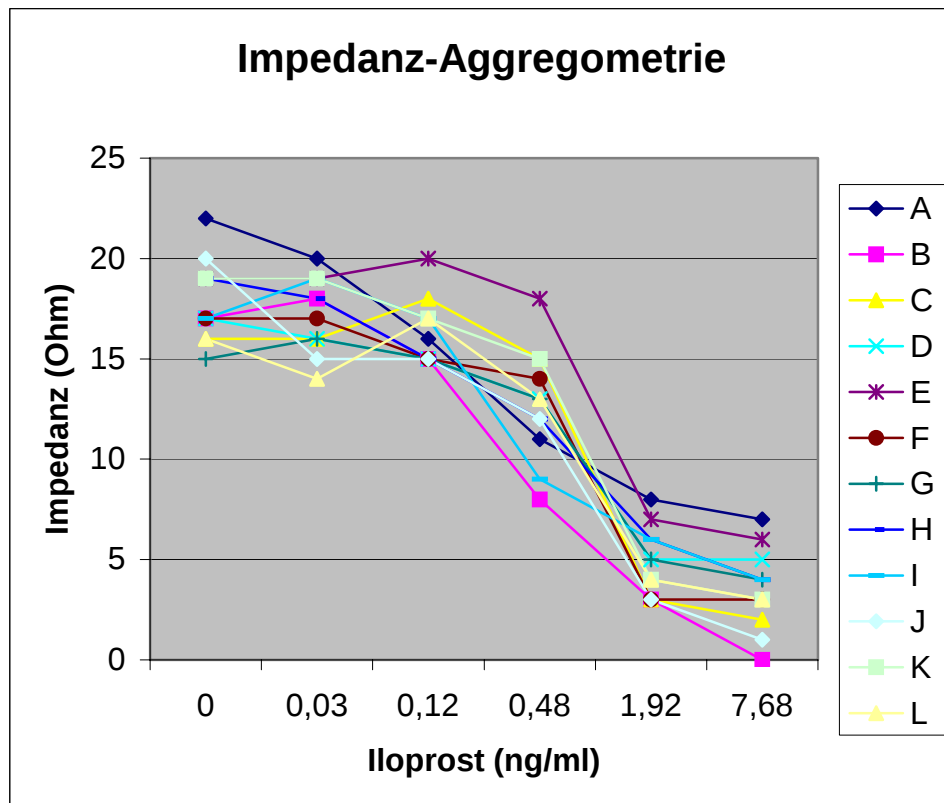


Abbildung 8. Effekte von Iloprost mit steigenden Konzentrationen auf die Vollblut-Impedanz-Aggregometrie. Impedanz-Werte lagen ohne Iloprost bei allen Probanden im Normbereich (13–23 Ohm). Bei 1,92 ng Iloprost/ml und 7,68 ng Iloprost/ml lagen sie bei allen Probanden weit unter dem Normbereich.

Tabelle 1. Herstellung verschiedener Iloprost-Lösungen

Unverdünnt (50 µg/2,5 ml)			20 µg/ml
Lösung I			
Iloprost (1,0 ml)	+	NaCl (1,5 ml)	8 µg/ml
Lösung II			
Iloprost (0,5 ml)	+	NaCl (4,5 ml)	2 µg/ml
Lösung III			
Iloprost (0,1 ml)	+	NaCl (3,9 ml)	0,5 µg/ml
Lösung IV			
Lösung III (1,0 ml)	+	NaCl (1,0 ml)	0,25 µg/ml
Lösung V			
Iloprost (0,02 ml)	+	NaCl (3,18 ml)	0,125 µg/ml
Lösung VI			
Iloprost (0,005 ml)	+	NaCl (3,195 ml)	0,03125 µg/ml

Tabelle 2. Herstellung der Testproben im 2 ml Citratblut

Iloprost-Konzentration in Blutprobe		Zugabe der Iloprost- Lösung (s. Tabelle 1)
0,00 ng/ml		1,92 µl NaCl
0,03 ng/ml	(0,06 ng/2 ml)	1,92 µl Lösung VI
0,12 ng/ml	(0,24 ng/2 ml)	1,92 µl Lösung V
0,48 ng/ml	(0,96 ng/2 ml)	1,92 µl Lösung III
1,92 ng/ml	(3,84 ng/2 ml)	1,92 µl Lösung II
7,68 ng/ml	(15,36 ng/2 ml)	1,92 µl Lösung I

Tabelle 3. Herstellung der Testproben im 3,8 ml Citratblut

Iloprost-Konzentration in Blutprobe		Zugabe der Iloprost- Lösung (s. Tabelle 1)
0,00 ng/ml		3,65 µl NaCl
0,03 ng/ml	(0,114 ng/3,8 ml)	3,65 µl Lösung VI
0,12 ng/ml	(0,456 ng/3,8 ml)	3,65 µl Lösung V
0,24 ng/ml	(0,912 ng/3,8 ml)	3,65 µl Lösung IV
0,48 ng/ml	(1,824 ng/3,8 ml)	3,65 µl Lösung III
1,92 ng/ml	(7,296 ng/3,8 ml)	3,65 µl Lösung II
7,68 ng/ml	(29,184 ng/3,8 ml)	3,65 µl Lösung I

Tabelle 4. Blutbild und Gerinnungsstatus der Probanden (N = 12)

Hämoglobin (g/l)	14,6 $\pm$ 0,8	14,6 (13,3 – 15,9)
Thrombozyten (x1000/ μ l)	243 $\pm$ 35	245 (177 – 291)
PTT (sec)	26 $\pm$ 2	25 (24 – 29)
Quick-Wert (%)	97 $\pm$ 6	100 (85 – 100)
INR	1,0 $\pm$ 0,1	1,0 (0,9 – 1,1)
Fibrinogen (mg/dl)	247 $\pm$ 63	241 (188 – 399)
Antithrombin III (%)	101 $\pm$ 10	100 (78 – 118)

Mittel $\pm$ Standardabweichung, Median (Minimum – Maximum)

Tabelle 5. TEG, PFA und Aggregometrie bei verschiedenen Iloprost-Konzentrationen (N=12)

	Iloprost-Konzentration (ng/ml)						
	0	0,03	0,12	0,24	0,48	1,92	7,68
<u>TEG</u>							
CT (min)	153±24	154±22	152±28		150±23	147±30	153±24
<i>P-Werte</i>		,864	,910		,666	,375	,914
CFT (min)	75±17	73±10	76±13		77±14	72±14	70±9
<i>P-Werte</i>		,648	,547		,485	,320	,286
MCF (mm)	57±3	58±3	57±4		58±5	59±5	58±5
<i>P-Werte</i>		,854	1,000		,584	,079	,342
Alpha (°)	76±3	76±2	75±3		75±3	75±3	76±2
<i>P-Werte</i>		,905	,085		,062	,220	,815
Amplitude 60min (%)	89±2	89±2	88±2		87±2	79±3	73±4
<i>P-Werte</i>		,152	,085		,013	,000	,000
<u>PFA (sec)</u>							
Epinephrin	137±31	162±54	208±61	275±43	300±0	300±0	300±0
<i>P-Werte</i>		,055	,000	,000	,000	,000	,000
ADP	93±16	100±21	97±18	174±94	244±84	300±0	300±0
<i>P-Werte</i>		,452	,591	,019	,000	,000	,000
<u>Aggregometrie (Ohm)</u>							
Kollagen	18±2	17±2	16±2		13±3	5±2	4±2
<i>P-Werte</i>		,294	,051		,000	,000	,000

Mittel ± Standardabweichung, Werte im Fettdruck: Änderungen statistisch signifikant gegenüber Ausgangswerten, *P-Werte*: Signifikanztest zwischen Ausgangswerten und Werten jeweiliger Iloprost-Konzentrationen

TEG = Thrombelastographie, PFA = Platelet Function Analyser, CT = Coagulation Time, CFT = Clot Formation Time, MCF = Maximum Clot Firmness, Alpha = Alpha-Winkel, Amplitude 60 min (%): TEG-Amplitude 60 Minuten nach Erreichen der maximalen Amplitude (MCF) als Prozent von MCF, ADP = Adenosin diphosphat

Lebenslauf

Name:	Zietlow, <u>Stefan</u> Johannes
Geburtsdatum:	04. Mai 1963
Wohnort:	Werfelweg 15 32545 Bad Oeynhausen
Geburtsort:	Göttingen
Konfession:	Evang.- lutherisch
Familienstand:	Verheiratet seit August 1993 mit der Kinderkrankenschwester Karen Zietlow, geb. Pennigsdorf
28. Juli 1995	Geburt unserer Tochter Charlotte Sophie
02. Juli 1997	Geburt unseres Sohnes Maximilian Johannes
1969 - 1984	Besuch der Grundschule sowie der Gesamtschule in Langenhagen, Abschluss: Allgemeine Hochschulreife
1980 - 1981	USA-Aufenthalt als Austauschschüler, Abschluss: High School Diploma
1984 - 1992	Studium der Humanmedizin an der Medizinischen Hochschule Hannover
17.08. 1988	Ärztliche Vorprüfung
29.08.1989	I. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
10.09.1990	II. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
10.90 – 09.91	Praktisches Jahr:
09.91 – 12.92	I. Anästhesie: Abt. IV der MHH im Oststadtkrankenhaus II. Innere Medizin: Evangelisches Krankenhaus Friederikenstift Hannover III. Chirurgie: Klinik für Allgemeinchirurgie der MHH, Klinik für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie der MHH
03.12.1992	III. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
01.93 – 01.98	Arzt im Praktikum sowie Assistenzarzt in der Weiterbildung zum Facharzt für Anästhesie in der Abteilung für Anästhesie und Intensivmedizin im Friederikenstift Hannover
12.1994	Erlangung der Zusatzbezeichnung „Rettungsmedizin“
02.1995	Erlangung der Sachkunde im Strahlenschutz
15.02.1998	Erlangung der Bezeichnung „Facharzt für Anästhesie“
02.98 – 11.00	Facharzt für Anästhesie in der Abteilung für Anästhesie und Intensivmedizin der Berufsgenossenschaftlichen Unfallklinik Frankfurt am Main
Seit 12.2000	Facharzt für Anästhesie im Institut für Anästhesiologie des Herz- und Diabeteszentrums NRW

Effekte von Prostacyclin-Analogen „Iloprost“ auf Thrombelastographie, Vollblut-Impedanz-Aggregometrie und Thrombozytenfunktion unter Shear-Stress-Bedingung (PFA-100) - Eine „in vitro“ Studie -

Stefan Johannes Zietlow, Werfelweg 15, 32545 Bad Oeynhausen

Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurde die Frage gestellt, inwieweit die Effekte von Iloprost auf die Thrombozytenfunktion mit den schnell und einfach durchführbaren Tests Thrombelastographie (TEG), Vollblut-Impedanz-Aggregometrie und PFA-100-System beurteilt werden können. Iloprost ist eine chemisch stabile, synthetische Substanz, die pharmakologisch dem Prostacyclin ähnelt (Prostacyclin-Analagon). Es wirkt aggregationshemmend auf Thrombozyten und vasodilatatorisch. Iloprost findet u.a. Anwendung bei Patienten mit der Anamnese der Heparin-induzierten Thrombozytopenie Typ II (HIT II), die sich einer Operation unter Zuhilfenahme der Herz-Lungen-Maschine unterziehen. Iloprost wird solchen Patienten hochdosiert infundiert, um die durch Heparin-Gabe hervorgerufene Thrombozyten-Aggregation zu verhindern. Eine wichtige und praktische Frage ist dabei, wie hoch Iloprost dosiert werden soll. Da Iloprost bei hoher Dosierung zu einem massiven Blutdruckabfall führen kann, sollte die Dosis von Iloprost optimal eingestellt werden. Dazu wird ein einfacher „Bedside-Test“ der Thrombozytenfunktion benötigt.

Die Ergebnisse stammen von 12 gesunden Probanden, die in den letzten 21 Tagen vor der Blutentnahme keine antithrombozytäre Medikation erhielten. Für diese „in vitro“ Studie wurden Blutproben mit verschiedenen Iloprost-Konzentrationen, die den gesamten therapeutischen Dosisbereich abdecken (0, 0,03, 0,12, 0,24, 0,48 und 1,92 ng/ml) und zusätzlich eine weitere Blutprobe mit einer weit über dem therapeutischen Bereich liegenden Konzentration von Iloprost (7,68 ng/ml) hergestellt.

Von den drei in dieser Studie verwendeten Messverfahren wurden die Effekte von Iloprost durch das PFA-System am empfindlichsten erfasst. Die Epinephrin-PFA-Zeit verlängerte sich bereits bei 0,12 ng Iloprost/ml eindeutig und hoch signifikant. Sie erreichte die maximal messbare Zeit (300 sec) bei allen Probanden bei der Konzentration von 0,48 ng Iloprost/ml. Die ADP-PFA-Zeit war ab 0,24 ng Iloprost/ml eindeutig verlängert und erreichte den maximal messbaren Wert bei 0,48 ng Iloprost/ml bei den meisten Probanden. Die Vollblut-Impedanz-Aggregometrie folgte in der Empfindlichkeit dem PFA-100-System. Der Impedanz-Wert verkleinerte sich bei 0,48 ng Iloprost/ml hoch signifikant und zeigte den niedrigsten Wert bei 1,92 ng Iloprost/ml. Im Gegensatz zu den ersteren zwei Messverfahren konnte man in den gebräuchlichen TEG-Parametern, der Gerinnungszeit, der Gerinnselbildungszeit, der maximalen Amplitude sowie dem Alpha-Winkel, keine Änderung feststellen. Erst nach Erreichen der maximalen TEG-Amplitude zeigte sich die für Iloprost charakteristische Änderung in der Abnahme der Amplitude. Die TEG-Amplitude, welche 60 min nach Erreichen der maximalen Amplitude gemessen wurde, zeigte bei 0,48 ng Iloprost/ml eine geringfügige aber statistisch signifikante Änderung und erst ab 1,92 ng/ml die hochsignifikante und eindeutige Abnahme, sie erreichte aber bei dieser Konzentration noch nicht den niedrigsten Wert.

Nach den Ergebnissen dieser Studie sollten in erster Linie die Vollblut-Impedanz-Aggregometrie und zusätzlich das PFA-100-System verwendet werden, um die Wirkungen von Iloprost im für HIT II-Patienten angestrebten Dosisbereich beurteilen und die Dosis gegebenenfalls korrigieren zu können.

Prof. Dr. med. Kazuo Inoue
Institut für Anästhesiologie
Herz und Diabeteszentrum NRW
32545 Bad Oeynhausen