

Aus dem Institut für Rechtsmedizin

der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktorin: Univ.-Prof. Dr. med. S. Ritz

Der Einfluss einer akuten Alkoholintoxikation auf die Blutgerinnung

Dissertation

Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Ronja Sabine Schmölders

2025

Als Inauguraldissertation gedruckt
mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker
Erstgutachter: Prof. Dr. med. Benno Hartung
Zweitgutachter: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. med. habil. Friedrich Boege

Meiner Familie gewidmet.

Publikation

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Schmölders, RS., Hoffmann, T., Hermsen, D., Bernhard M., Boege, F., Lau, M., Hartung, B. *Evaluation of alcohol intoxication on primary and secondary haemostasis - Results from comprehensive coagulation testing* Int J Legal Med, 2025 Feb 22. doi: 10.1007/s00414-025-03449-7

Zusammenfassung

Von einer veränderten Blutgerinnung bei alkoholintoxizierten Personen wird seit Langem ausgegangen, der zugrunde liegende Mechanismus und das Ausmaß sind jedoch bislang unzureichend erforscht. Es fehlen systematische Untersuchungen zur akuten Wirkung von Ethanol auf die primäre und sekundäre Hämostase beim Menschen. Ziel dieser prospektiven Studie war es, den Einfluss sehr hoher Blutalkoholkonzentrationen (BAK) auf verschiedene Parameter der Hämostase zu erfassen und mögliche diagnostische Lücken in der klinischen Akutversorgung zu identifizieren.

Die Studie wurde interdisziplinär in Zusammenarbeit mit der Zentralen Notaufnahme, dem Zentrallinstitut für klinische Chemie und der Hämostaseologie des Universitätsklinikums Düsseldorf durchgeführt. Bei alkoholisierten Patient*innen wurden im Rahmen der klinischen Aufnahme Blutproben entnommen und sowohl Thrombozytenfunktionsanalysen (Multiplate®) und Thromboelastographien (ROTEM®) als auch laborchemische Gerinnungsparameter erhoben. Zudem wurden die Leberenzyme bestimmt, um leberbedingte Einflüsse auf die Gerinnung zu berücksichtigen, und die eingenommenen Medikamente erfasst. Die klinische BAK wurde gemessen, ergänzend diente carbohydrat-defizientes Transferrin (CDT) als Marker für chronischen Alkoholkonsum.

Die Ergebnisse legen nahe, dass Alkohol die Thrombozytenaggregation signifikant beeinträchtigen kann, insbesondere bei ADP- und ASPI-Stimulation und bei weiblichen Probanden. Auch bei der Ratio des vWF zeigte sich eine Tendenz zur Abnahme mit steigender BAK, unabhängig vom Geschlecht. Thrombelastographie und plasmatische Gerinnungstests zeigten hingegen keine relevanten Veränderungen. Die negativen Effekte auf die primäre Hämostase verschwanden nach dem Abklingen der Intoxikation, was auf einen direkten Einfluss von Alkohol auf die Thrombozytenfunktion hindeutet. *In vitro* konnten diese Effekte nicht reproduziert werden, was auf zusätzliche vaskuläre Faktoren schließen lässt.

Diese Befunde unterstreichen die Bedeutung des Alkoholkonsums als relevanter Einflussfaktor auf die primäre Hämostase. Insbesondere bei notfallmäßigen Interventionen oder Operationen sollte bei alkoholisierten Patient*innen mit einer erhöhten Blutungsneigung gerechnet werden, zumal Alkohol häufig mit gerinnungshemmenden Medikamenten kombiniert wird. Eine strukturierte Anamnese, standardisierte Protokolle und gezielte Gerinnungsdiagnostik können helfen, Risiken frühzeitig zu erkennen. Künftige Studien sollten insbesondere die geschlechtsspezifischen Unterschiede weiter beleuchten und praxisnahe Handlungsempfehlungen für die Akutmedizin entwickeln.

Die Zusammenfassung basiert inhaltlich teilweise auf der eigenen Publikation [30].

Summary

The impairment of blood coagulation in alcohol-intoxicated individuals has long been assumed, yet the underlying mechanisms and its extent remain insufficiently understood. To date, systematic studies on the acute effects of ethanol on primary and secondary haemostasis in humans are lacking. The aim of this prospective study was therefore to investigate the impact of very high blood alcohol concentrations (BAC) on various haemostatic parameters and to identify potential diagnostic gaps in acute clinical care.

The study was conducted as an interdisciplinary project in cooperation with the emergency department, clinical chemistry, and haemostasis units at the University Hospital Düsseldorf. Upon clinical admission, blood samples were collected from intoxicated patients. These were analysed using Multiplate® aggregometry and thromboelastography (ROTEM®), alongside standard coagulation laboratory parameters. Liver enzymes were also determined to account for hepatic influences on haemostasis. BAC levels were measured enzymatically, and carbohydrate-deficient transferrin (CDT) was used as an additional marker for chronic alcohol consumption. Prescribed medication was documented.

The results suggest that alcohol can significantly impair platelet aggregation, particularly under ADP and ASPI stimulation and especially in female subjects. The von Willebrand ratio also tended to decrease with rising BAC, regardless of sex. In contrast, thromboelastography and plasmatic coagulation tests did not reveal relevant alterations. The negative effects on primary haemostasis resolved as intoxication subsided, indicating a direct influence of alcohol on platelet function. These effects could not be reproduced *in vitro*, suggesting additional vascular mechanisms may be involved.

These findings highlight alcohol consumption as a clinically relevant factor influencing primary haemostasis. In emergency situations or surgical interventions, intoxicated patients should be considered at increased risk for bleeding complications, particularly when anticoagulant medications are involved. Structured history-taking, standardized clinical protocols, and targeted coagulation diagnostics may help identify risks early and improve patient management. Future studies should further investigate sex-specific effects and aim to develop practical recommendations for emergency and perioperative care.

This summary is partly based on the author's own publication [30].

Abkürzungsverzeichnis

ADH	Akloholdehydrogenase
ADP	Adenosindiphosphat
ALDH	Acetaldehyddehydrogenase
ALT	Alanin-Aminotransferase
aPTT	aktivierte partielle Thromboplastinzeit
ASPI	Arachidonsäure-induzierter Test
AST	Aspartat-Aminotransferase
AUC	Area under the Curve
BAK	Blutalkoholkonzentration
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
CDT	Carbohydrat-defizientes Transferrin
CFT	Clot Formation Time
CT	Clotting Time
CYP2E1	Cytochrom P450E1
FAEE	Fettsäureethylester
GABA	Gamma-Aminobuttersäure
GPIIb/IIIa	Glycoprotein IIb/IIIa (Thrombozytenrezeptor)
H ₂ O	Wasser
MCF	Maximum Clot Firmness
MEOS	Mikrosomales Ethanol-oxidierendes System
ML	Maximum Lysis
NaCl	Natriumchlorid
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
PAR-1	Protease-aktivierter Rezeptor 1
PT	Prothrombinzeit (Quick)
ROTEM	Rotations-Thromboelastometrie
TRAP	Thrombin-Rezeptor-aktivierendes Peptid
vWF	von-Willebrand-Faktor
vWF-AG	von-Willebrand-Faktor Antigen

vWF-AK von-Willebrand-Faktor Aktivität

γ -GT Gamma-Glutamyltransferase

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG	1
1.1. Einführung (Idee der Arbeit)	1
1.2. Ethanol	1
1.2.1 Grundlagen	1
1.2.2 Epidemiologie	1
1.2.3 Geschichte des Alkoholkonsums	2
1.2.4 Aufnahme und Abbau von Ethanol im menschlichen Körper	2
1.2.5 Wirkung von Ethanol auf den menschlichen Organismus	3
1.3. Blutgerinnung	4
1.3.1 Hämostase	4
1.3.2 Primäre Hämostase	4
1.3.3 Sekundäre Hämostase und Gerinnungskaskade	5
1.4. Medizinische Verfahren zur Messung der Blutgerinnung	7
1.4.1 Thrombozytenfunktionsanalyse (Multiplate®-Analyse)	7
1.4.2 Thrombelastographie (ROTEM®)	8
1.4.3 Sonstige Verfahren/Messmethoden	10
1.5. Ethanol und die Blutgerinnung – Erkenntnisse aus vorausgegangenen Studien	10
1.6. Ziel der Arbeit	11
1.7. Ethikvotum	11
2. PUBLIKATION	12
3. ZUSÄTZLICHE ERGEBNISSE	25
3.1. Genderunterschiede	25
3.1.1 Multiplate®	25
3.1.2 Von Willebrand-Faktor Ratio	28
4. DISKUSSION	28
4.1 Genderunterschiede	28
4.2 Was bedeutet ein erhöhtes Blutungsrisiko durch Alkoholkonsum im klinischen Alltag?	28
4.3 Optimierung der Versorgung in der Notaufnahme	29
4.4 Schlussfolgerungen und Ausblick	29
5. LITERATUR- UND QUELLENVERZEICHNIS	30

Einleitung

1.1. Einführung (Idee der Arbeit)

Die oft ausbleibende oder sehr spärliche postmortale Blutgerinnung bei alkoholintoxizierten Personen ist seit langer Zeit in rechtsmedizinischen Lehrbüchern beschrieben, der Grund hierfür jedoch nicht. Bei der Literatursuche nach möglichen Gründen zeigte sich eine heterogene Datenlage (vgl. 1.5.), wobei keine umfassenden Untersuchungen der Gerinnungsfunktion stattfanden. Die Gerinnungsfunktion kann postmortal jedoch nur noch sehr eingeschränkt untersucht werden und eine mögliche klinische Auswirkung ist ohnehin von mehr als nur akademischem Interesse. Daher wurde zusammen mit der Zentralen Notaufnahme, der klinischen Chemie und der Hämostaseologie der Uniklinik Düsseldorf eine eigene Studie zu dieser Thematik initiiert.

1.2. Ethanol

1.2.1 Grundlagen

Ethanol ist ein einwertiger, aliphatischer Alkohol mit der Summenformel C_2H_6O . Ein Synonym für Ethanol ist Ethylalkohol. Umgangssprachlich wird Ethanol vereinfacht mit „Alkohol“ gleichgesetzt. Der Begriff „Alkohol“ stammt aus dem Arabischen (kuhl, mit Artikel al-kuhúl) und kann mit „Weingeist“ übersetzt werden [1].

1.2.2 Epidemiologie

Ethanol wird in weiten Teilen der Welt in sehr großen Mengen konsumiert. Allein in Deutschland waren es im Jahr 2020 durchschnittlich 10 Liter reines Ethanol pro Einwohner (ab 15 Jahren) [2]. Im Jahr 2023 wurden laut dem Statistischen Bundesamt rund 62.300 Personen aufgrund akuter Alkoholvergiftungen stationär in Krankenhäusern behandelt [3]. Besonders betroffen waren Jugendliche im Alter von 15 bis 19 Jahren, in dieser Altersgruppe wurden 2023 etwa 7.800 stationäre Behandlungsfälle registriert.

Langfristiger übermäßiger Alkoholkonsum führt häufig zu chronischen Lebererkrankungen, insbesondere zur Leberzirrhose. Schätzungen zufolge sind in Deutschland rund eine Million Menschen an einer Leberzirrhose erkrankt [4], was sich wiederum auf die Blutgerinnung auswirken kann. Jährlich sterben über 8.000 Menschen in Deutschland an den Folgen alkoholbedingter Lebererkrankungen [5][6]. Insgesamt verzeichnete das Statistische Bundesamt im Jahr 2022 rund 14.200 Todesfälle, die direkt auf Alkoholkonsum zurückgeführt wurden [7].

1.2.3 Geschichte des Alkoholkonsums

Die Ursprünge des Bierbrauens gehen schriftlichen Hinweisen nach auf die Sumerer, Babylonier und Ägypter zurück [8]. Sie verwendeten angegorenes, mit Wasser versetztes Getreide aufgrund des hohen Energiegehaltes als Nahrungsmittel und als Währung [ebd.]. Im Mittelalter wurde Dünnbier (weniger als 2 Vol.-%) mit Quellwasser hergestellt, anschließend in die Städte transportiert und konnte so über einen längeren Zeitraum gelagert werden. Das Flusswasser war ungenießbar, da Flüsse damals häufig zur Entsorgung häuslicher und industrieller Abwässer dienten [1], [8]. Ethanol wurde des Weiteren als Heilmittel eingesetzt und auch in der Gegenwart ist es ein wichtiger Bestandteil einiger Medikamente, v.a. als Löse- oder Konservierungsmittel. In der heutigen Zeit werden alkoholische Getränke primär als Genussmittel konsumiert. Alkoholische Getränke sind in Deutschland ubiquitär verfügbar und sie werden aufgrund ihrer zunächst stimmungsaufhellenden und enthemmenden Wirkung insbesondere bei sozialen Anlässen konsumiert, was mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung einer Abhängigkeit einhergeht [9].

1.2.4 Aufnahme und Abbau von Ethanol im menschlichen Körper

Ethanol wird für gewöhnlich oral konsumiert und über den Gastrointestinaltrakt resorbiert. Über die Portalvene gelangt das Ethanol als erstes in die Leber (*first-pass-effect*), anschließend folgt die Verteilung in die wasserhaltigen Bestandteile des gesamten Körpers [10]. Welche Blutalkoholkonzentration nach der Aufnahme einer definierten Ethanolmenge zu bestimmten Zeitpunkten im Anschluss erreicht wird, hängt insbesondere von der Körpermasse, der Körperstatur, von dem Geschlecht, bei Frauen ggf. vom Menstruationszyklus, von der Gewöhnung an Ethanol (MEOs-Induktion), der Art des Getränks und begleitender Nahrungsaufnahme (Resorptionsdefizit) ab [11].

Der Abbau findet vorwiegend in der Leber statt, dort wird das Ethanol in drei Schritten zu CO_2 und H_2O umgewandelt [10]. Zunächst wird es v.a. durch die Alkoholdehydrogenase (ADH) zu Acetaldehyd oxidiert [ebd.]. Acetaldehyd steht in Verdacht sog. Hangover-Symptome zu verursachen [4]. Die Verstoffwechselung zu Acetaldehyd kann auch im Mikrosom durch das Enzym CYP2E1 oder im Peroxisom durch Katalase passieren [10]. Bei der Verstoffwechselung von Ethanol zu Acetaldehyd entstehen freie Sauerstoffradikale, die normalerweise von Antioxidantien (z.B. Glutathion) abgefangen werden.

Acetaldehyd wird im zweiten Schritt der Ethanolmetabolisierung mit der Acetaldehyddehydrogenase (ALDH) zu Acetat umgewandelt, welches letztendlich zu Acetyl-CoA aktiviert wird [ebd.]. Neben dem oxidativen Weg kann Ethanol auch nichtoxidativ entweder durch eine Reaktion mit Fettsäuren zu Fettsäureethylester (FAEE) oder durch Phospholipase D zu Phosphatidylethanol abgebaut

werden. Geringfügige Mengen Ethanol können über die Lunge, den Schweiß, Tränenflüssigkeit oder den Urin ausgeschieden werden [ebd.].

1.2.5 Wirkung von Ethanol auf den menschlichen Organismus

Bei der Wirkung des Ethanols auf den Körper muss zum einen zwischen akutem und chronischem Ethanolkonsum und zum anderen zwischen Symptomen mit Toleranzentwicklung und solchen ohne Toleranzentwicklung unterschieden werden. Wie stark die akuten psychophysischen Auswirkungen sind, hängt im Wesentlichen, wie auch bei anderen Drogen, von der Gewöhnung des Konsumenten ab. Im Folgenden wird ein Überblick über diese Auswirkungen gegeben, wobei vor allem die Wirkungen von akutem Ethanolkonsum thematisiert werden. Die Wirkungen des chronischen Alkoholkonsums werden nur gestreift, da es in dieser Arbeit um die Veränderungen der Blutgerinnung bei akutem Konsum geht.

Bei Alkohol-ungewohnten Personen treten bereits bei BAKen von 0,2 - 0,3 % Beeinträchtigungen der Koordination, des Reaktionsvermögens und der Konzentration auf [9]. Ab etwa 1 % kommt es zu Dysarthrie, Affektveränderungen, Koordinations- und Gangstörungen. Bei BAKen über 2 % zeigen Menschen Symptome der Lethargie und Somnolenz und ab spätestens 4 % kommt es regelmäßig zu Bewusstseinseintrübung, Koma und einer lebensbedrohlichen Atem- und Kreislaufdepression [ebd.]. Die Übergänge der verschiedenen Symptome sind fließend. Da jeder individuell auf das Ethanol reagiert, können die angegebenen Promillewerte nur als grobe Richtwerte angesehen werden.

Ursache für die Symptome ist die Wirkung von Ethanol an verschiedenen Rezeptoren im zentralen Nervensystem. Die Wirkungen scheinen dabei umso stärker ausgebildet, je schneller die Änderungen an den Rezeptoren erfolgen [12]. Ethanol bindet z.B. agonistisch an den GABA-A Rezeptor und erhöht dadurch die Frequenz, mit der sich der Chloridkanal öffnet. Dadurch kommt es zu einer Hyperpolarisation der Zelle, einem verminderten Aktionspotential und letztendlich zur verminderten Freisetzung exzitatorischer Neurotransmitter [ebd.]. In der Folge treten Symptome wie verwaschene Sprache, Sedierung oder Atemdepression auf [13].

Zudem erhöht ein akuter Ethanolkonsum die Freisetzung von Serotonin und Dopamin im Nucleus accumbens und steigert die Wiederaufnahme von Dopamin [14][15]. Dadurch kommt es zu einer Aktivierung des Belohnungssystems durch Ethanol [15].

Im Alkoholentzug können auftretende Symptome wie Ängste oder Depressionen auf eine verminderte Aktivität des serotonergen Systems zurückzuführen sein [16].

Ethanol besitzt ferner eine antagonistische Wirkung auf den glutamatergen NMDA-Rezeptor und führt somit zu einem reduzierten Kalzium-Einstrom [17]. Außerdem werden die Langzeitpotenziierungen, die v.a. für das Gedächtnis und das Lernen von Bedeutung sind, gehemmt. Dies kann zum Symptom des „Blackouts“ oder zu einer anterograden Amnesie beim Konsumieren großer Ethanolmengen führen. Über die Zeit nimmt die Empfindlichkeit der NMDA-Rezeptoren gegenüber dem Ethanol ab. Dieses Phänomen wird „akute Toleranz“ genannt [ebd.]. Bei chronischem Ethanolkonsum passt sich der Körper der Hemmung mit einer zunehmenden Anzahl NMDA-Rezeptoren an, damit der Kalziumeinstrom kompensiert werden kann [18].

Im Rahmen der Ausnüchterung nach Ethanolkonsum kann es zu Entzugssymptomen in leichter („Kater“) oder in schwerer Form (Alkoholentzugsdelir) kommen. Die Symptome reichen dabei von Kopfschmerzen, Zittern, psychomotorischer Unruhe und Schlaflosigkeit bis hin zu Halluzinationen, starken Angstzuständen oder tonisch-klonischen Krampfanfällen [19]. Dadurch, dass der Ethanolspiegel im Blut sinkt, kommt es zu einer GABAergen Hypo- und einer glutamatergen Hyperaktivität und damit zu einem Ungleichgewicht, das zu einer neuronalen Übererregbarkeit führt [ebd.].

Durch eine Überstimulation des (nor)adrenergen Systems im Gehirn kommt es zudem zu einer vegetativen Hyperaktivität, die sich in vermehrtem Schwitzen, Fieber, Bluthochdruck, Mydriasis und Tachykardie äußert [9].

1.3. Blutgerinnung

1.3.1 Hämostase

Die Hämostase ist ein lebenswichtiger mehrstufiger Prozess, der schlussendlich zur Bildung eines Komplexes aus Fibrin und damit zur Stillung des Blutes bei einer Gefäßverletzung führt. Die Hämostase kann in eine primäre Hämostase und eine sekundäre Hämostase unterteilt werden, die wiederum in mehrere Phasen oder Wege unterschieden werden können.

1.3.2 Primäre Hämostase

Zu Beginn der primären Hämostase kommt es zur vaskulären Blutstillung, das heißt, dass es in der ersten Minute nach einer Gefäßverletzung zur Vasokonstriktion des verletzten Gefäßes durch die Freisetzung von ADP, Serotonin und Katecholaminen aus aktivierte Thrombozyten kommt [20]. Dies führt zum einen dazu, dass weniger Blut durch das Gefäß strömt und dadurch aus dem Blutgefäßsystem entweichen kann und zum anderen, dass die Scherkräfte im Blut erhöht sind, sodass die Thrombozyten an den Gefäßrand gedrängt werden und einfacher an die verletzte Stelle im Gefäß gelangen können. Im zweiten, parallel ablaufenden Teil der primären bzw. zellulären Hämostase,

bildet sich über die drei Stufen, Thrombozytenadhäsion, -aktivierung und -aggregation, ein weißer Thrombus.

Durch eine Gefäßverletzung werden subendotheliale Bindegewebsproteine wie Kollagen freigesetzt [21]. Das im Blut vorhandene Glycoprotein vWF bindet auf der einen Seite an das Kollagen und auf der anderen Seite an die Thrombozytenmembran, sodass das verletzte Endothel mit Thrombozyten bedeckt ist [22]. Dieser Schritt heißt Adhäsion. Durch die Bindung kommt es zur Sezernierung von Granula (ADP und Serotonin) und Thromboxan A2 aus den Thrombozyten und damit zur Adhäsion und Aktivierung weiterer Thrombozyten [20]. In kurzer Zeit entsteht eine Ansammlung von sehr vielen Thrombozyten. Im letzten Schritt der primären Hämostase kommt es zur Thrombozytenaggregation. Durch die Aktivierung ändert sich die Konformation des Fibrin-Rezeptors GPIIb/IIIa auf der Thrombozytenmembran (visköse Metamorphose) und die Thrombozyten werden durch aus dem Blutplasma stammendes Fibrinogen verknüpft [22]. Es entsteht ein dichtes, instabiles, zelluläres Ge- bilde aus Thrombozyten und Fibrinogen, der „weißer Thrombus“ oder „Thrombozyten-Pfropf“ ge- nannt wird [20].

1.3.3 Sekundäre Hämostase und Gerinnungskaskade

Die sekundäre Hämostase wird auch plasmatische Gerinnung genannt und führt über verschiedene Schritte zu einem stabilen Fibrinnetz [22]. Bei den einzelnen Schritten werden Plasmaproteine, deren inaktive Vorläufer sich im Blut befinden, durch proteolytische Spaltung aktiviert. Diese Plasmaproteine oder Gerinnungsfaktoren, wie sie auch genannt werden, werden mit den römischen Ziffern I bis XIII nummeriert, wobei eine Ziffer ohne Buchstabe für die inaktive Form, eine Ziffer mit anschließendem „a“ für die aktive Form steht. Jeder Gerinnungsfaktor hat ein Synonym (siehe Tabelle 1), Faktor IIa heißt z.B. auch Thrombin. Da die Gerinnungsfaktoren in einer bestimmten Reihenfolge aktiviert werden, bezeichnet man den Vorgang als Gerinnungskaskade. Die Gerinnungskaskade kann exogen durch den extrinsischen Weg oder endogen durch den intrinsischen Weg aktiviert werden. Beide Wege münden in einer gemeinsamen Endstrecke und sind *in vivo* eng miteinander verknüpft [ebd.].

Der extrinsische Weg startet, indem der Tissue Faktor den Faktor VII aktiviert [23]. Der Tissue Faktor ist ein Transmembranprotein, das in den Fibroblasten und dem subendothelialen Gewebe vorkommt und durch Endothelverletzungen Kontakt zum Blut und den Gerinnungsfaktoren bekommt [24]. Faktor VIIa und der Tissue Faktor bilden zusammen mit Ca^{+2} -Ionen und Phospholipiden aus dem Blut die extrinsische Tenase, ein Enzymkomplex, der den Faktor X aktivieren kann [ebd.].

Der intrinsische Weg wird durch die Aktivierung von Faktor XII durch negativ geladene Oberflächenmoleküle, Kallikrein, Kollagen und Kininogen gestartet [22]. Faktor XIIa und Faktor IIa aktivieren zusammen Faktor XI. Faktor XIa wiederum aktiviert Faktor IX. Außerdem wird Faktor VIII

durch Faktor IIa aktiviert, sodass eine intrinsische Tenase aus Faktor IXa, VIIIa, Ca^{+2} -Ionen und Phospholipiden entsteht, die, wie die extrinsische Tenase, den Faktor X aktivieren kann.

Ab hier laufen beide Wege gleich ab [ebd.]. Zum einen wird Faktor X durch die beiden Tenasen aktiviert, zum andern aktiviert Faktor IIa den Faktor V. Es entsteht aus Faktor Va, Xa, Ca^{+2} -Ionen und Phospholipiden der Enzymkomplex Prothrombinase. Dieser Komplex wandelt Prothrombin (Faktor II) in Thrombin um, das wiederum Fibrinogen proteolytisch in Fibrin-Monomere spaltet (Faktor I). Zusätzlich kann Thrombin ebenfalls die Gerinnungsfaktoren V, VIII, XI und XIII aktivieren und positive Rückkopplungsschleifen bilden [ebd.].

Damit ein unlöslicher Fibrin thrombus entsteht, vernetzt der Faktor XIII die Fibrin-Monomere über kovalente Bindungen zwischen Lysin- und Glutamin-Resten [20]. Da an dem Fibrin thrombus Erythrozyten hängen bleiben, wird dieser auch als „roter Thrombus“ bezeichnet. Die Zeitspanne bis zum aktiven Thrombin kann auch als Aktivierungsphase und die anschließende Zeitspanne bis zur Entstehung des „roten Thrombus“ als Koagulationsphase bezeichnet werden. Zum Abschluss kommt es in der Retraktionsphase zum Zusammenziehen der Fibrinfäden sowie des Aktins und Myosins der Thrombozyten zu einem mechanisch gefestigten Thrombus [ebd.].

Das beschriebene sowie länger und besser bekannte Kaskadenmodell berücksichtigt jedoch nicht vollständig die zellulären Komponenten, die *in vivo* eine entscheidende Rolle spielen. Um diese zellulären Aspekte zu integrieren und somit eine realistischere Darstellung der Gerinnungsvorgänge im menschlichen Körper darzustellen wird im Folgenden das neuere zellbasierte Modell beschrieben.

Die Blutgerinnung erfolgt *in vivo* nicht linear, sondern in einem zellbasierten, phasen gegliederten Prozess. Dieser gliedert sich in Initiation, Amplifikation und Propagation [25]. In der Initiationsphase wird durch die Verletzung des Endothels *Tissue Factor* auf subendothelialen Zellen exponiert. *Tissue Factor* bildet mit Faktor VIIa einen Komplex, der erste geringe Mengen Faktor Xa und damit Thrombin erzeugt – den sogenannten Thrombinfunken [26].

Das geringe, aber essentielle Thrombin aktiviert in der Amplifikationsphase Thrombozyten und die Gerinnungsfaktoren V, VIII und XI [25]. Thrombozyten exprimieren negativ geladene Phospholipide, auf denen in der Propagationsphase Tenase- (IXa/VIIIa) und Prothrombinase-Komplexe (Xa/Va) gebildet werden. Diese führen zu einem massiven Thrombinanstieg und schließlich zur Umwandlung von Fibrinogen zu Fibrin, wodurch der stabile Thrombus entsteht [ebd.].

Tabelle 1: Namen der Gerinnungsfaktoren

Gerinnungsfaktor	Synonym
Faktor I	Fibrinogen
Faktor Ia	Fibrin
Faktor II	Prothrombin
Faktor IIa	Thrombin
Faktor III	<i>Tissue factor</i> , Gewebefaktor, Gewebethromboplastin
Faktor IV	Kalzium-Ionen
Faktor V	Proakzelerin
Faktor Va	Akzelerin
Faktor VII	Prokonvertin, Prothrombinogen
Faktor VIII	Antihämophiles Globulin A
Faktor IX	Christmas-Faktor, Antihämophiles Globulin B
Faktor X	Stuart-Prower-Faktor
Faktor XI	Rosenthal-Faktor
Faktor XII	Hageman-Faktor
Faktor XIII	Fibrinstabilisierender Faktor, Laki-Lorand-Faktor, Fibrinoligase

1.4. Medizinische Verfahren zur Messung der Blutgerinnung

1.4.1 Thrombozytenfunktionsanalyse (Multiplate®-Analyse)

Der Multiplate®, Roche AG, Analyzer ist ein Messgerät mit dem schnell und einfach die Thrombozytenfunktion gemessen werden kann [27]. Es besteht aus insgesamt fünf Messkanälen, sodass bis zu fünf unterschiedliche Tests gleichzeitig durchgeführt werden können. Jeder Messkanal beinhaltet eine Messzelle, in der sich „zwei unabhängige Sensorpaare aus je zwei mit Silber beschichteten, sehr leitfähigen Kupferdrähten sowie ein teflonbeschichteter Rührstab befinden“ [27]. Die Sensorpaare lassen sich mit Sensoren verbinden, über die die Messung detektiert und anschließend auf einen angeschlossenen Computer übermittelt wird [28]. Für die Messung werden zunächst 300 µL, auf 37°C angewärmte, 0,9%ige Kochsalzlösung und 300 µL Citrat-Vollblut (Raumtemperatur) in eine Messzelle pipettiert. Es wird eine elektronische/computergesteuerte Pipette verwendet. Dieses Gemisch wird nun für drei Minuten mit dem Rührstab gemischt. Anschließend kommt je nach Test 20 µL eines Thrombozytenaktivators hinzu. Die dadurch aktivierten Thrombozyten setzen sich an die Oberfläche

der Sensordrähte und es kommt zur Erhöhung des elektrischen Widerstandes. Dieser Impedanzunterschied kann von dem Gerät wahrgenommen und als Fläche unter der Kurve (AUC) auf dem Computer dargestellt werden. Eine verkleinerte AUC weist somit auf eine gestörte oder verminderte Thrombozytenaktivierung hin [28].

In unserem Projekt wurden der ADPtest, der ASPItest und der TRAPtest durchgeführt. Beim ADPtest werden dem NaCl-Vollblutgemisch 20 µL einer 0,2mM-haltigen Adenosindiphosphat (ADP)-Lösung als Aktivator hinzugegeben. Hierdurch kommt es zur Aktivierung der Blutplättchen durch die Bindung von ADP an die Adenosindiphosphatrezeporen der Thrombozyten und zur Aggregation an den Drähten der Sensoren. Eine Hemmung des P2Y12-Rezeptors oder eine Hemmung bzw. das Fehlen des GpIIb/IIIa-Rezeptors führt zu einer verminderten AUC, z.B. bei ADP-Antagonisten (Prasugrel, Ticlopidin oder Clopidogrel) [27].

Beim ASPItest werden 20 µL Arachidonsäure, 15 mM haltig, als Aktivator verwendet. Da es hier zu einer Umwandlung der Arachidonsäure zu Thromboxan A2 durch die Cyclooxygenase und damit zur Thrombozytenaktivierung kommt, ist die AUC verkleinert, wenn eine Hemmung der Cyclooxygenase oder wiederum eine Hemmung bzw. das Fehlen des GpIIb/IIIa-Rezeptors vorliegt. Dies ist z. B. bei der Einnahme von Azetylsalizylsäure oder anderen nichtsteroidalen Antiphlogistika der Fall [27].

Im TRAPtest werden 20 µL des Thrombinrezeptor-aktivierenden Peptid-6 (TRAP-6), 1mM haltig, zu der Probe hinzugegeben und es kommt zu einer verstärkten Thrombozytenaktivierung durch den Thrombinrezeptor PAR-1, z.B. bei Glykoprotein-IIb/IIIa-Antagonisten [27].

1.4.2 Thrombelastographie (ROTEM®)

Das Rotem® ist ein Gerät der Firma Matel, in dem die funktionelle Gerinnung von Blut gemessen werden kann. Im Folgenden sind der Aufbau und die Funktion, wenn nicht anders gekennzeichnet, nach dem Leitfaden „ROTEM® Analyse Zielgerichtete Behandlung akuter Hämostasestörungen“ [29] beschrieben:

Das Rotem® ist eine Weiterentwicklung der Thrombelastographie nach Professor Hartert und wurde 1995 - 1997 in München entwickelt. In unserem wissenschaftlichen Projekt wurde das Gerät Rotem® delta, Tem International GmbH, benutzt, bei dem bis zu vier Messungen gleichzeitig stattfinden können.

Das Rotem® besteht aus einem Küvettenhalter mit Küvette und einer Drehachse mit einer Feder, auf die ein Sensorstempel gesteckt werden kann. Die Probe wird in die Küvette pipettiert und der aufgesteckte Stempel taucht in die Küvette. Stempel und Küvette sind über die Probe quasi miteinander

verbunden; der Spalt dazwischen ist 1 mm breit. Der Stempel dreht sich nun abwechselnd nach links und nach rechts. Dies ist nur solange problemlos möglich, wie die Probe flüssig ist; fängt sie an zu gerinnen, hemmt sie die Drehbarkeit des Stempels. Das heißt, je ausgeprägter/stärker die Gerinnselfestigkeit, desto weniger gut ist der Stempel drehbar. Diese Festigkeit wird detektiert und über einen angeschlossenen Computer in physikalische Parameter umgerechnet. Bei der Thrombelastographie nach Hartert wird die Küvette und nicht der Stempel gedreht.

Es können sowohl Vollblut als auch Plasma verwendet werden, da es sich um ein mechanisches Messprinzip handelt. Da die Analyse der Messwerte zeitkritisch ist, sollte die Messung in <4 Stunden nach der Blutentnahme stattfinden. Um die einzelnen Schritte der Hämostase darstellen zu können, werden verschiedene Messungen mit unterschiedlichen Aktivatoren und Inhibitoren durchgeführt. Es wurden folgende Tests durchgeführt: FIBTEM, EXTEM und INTEM.

Bei dem Test „EXTEM“ werden in die Küvette mit einer elektronischen Pipette 20 µL der Flüssigkeit star-tem® (Kalziumchlorid und Pufferlösung) und 20 µL der Flüssigkeit ex-tem® (Gewebethromboplastin/*Tissue factor*, Kalziumchlorid und Pufferlösung) und anschließend 300µL auf 37°C angewärmtes Citrat-Vollblut pipettiert. Die Gerinnung wird durch die Zugabe von Gewebethromboplastin gestartet. Es können die Gerinnungsfaktoren VII, X, V, II, I, die Thrombozyten und die Fibrinolyse in ihrer Menge und Funktion beurteilt werden.

Beim Test „INTEM“ werden je 20 µL star-tem® und 20 µL in-tem® (Ellagsäure, Kalziumchlorid und Pufferlösung) in die Küvette pipettiert, bevor analog zum EXTEM-Test 300 µL angewärmtes Citrat-Vollblut hinzu pipettiert werden. Die Gerinnung wird durch die Kontaktphase in Gang gesetzt und damit der intrinsische Weg, also speziell die Faktoren XII, XI, IX, VIII, sowie die Faktoren X, V, II, I, die Thrombozyten und die Fibrinolyse analysiert.

Der „FIBTEM“-Test wird ebenfalls durch Zugabe von Gewebethromboplastin (20 µL r ex-tem®) gestartet, zusätzlich wird jedoch noch die thrombozytenblockierende Substanz Cytochalasin D (20 µL fib-tem®) hinzugefügt, bevor auch hier 300µL angewärmtes Citrat-Vollblut hinzu pipettiert werden, sodass ausschließlich Fibrinspiegel und Fibrinpolymerisation betrachtet werden können.

Alle drei Messungen werden gestartet, indem man die Küvettenhalter inkl. Küvette und Probe auf den Stempel schiebt. Die möglichen zu messenden Parameter sind die Clotting Time (CT, Zeitspanne vom Zeitpunkt, wo die Aktivatoren und das Blut in Kontakt treten, bis zum Beginn der Gerinnselfestigkeit), die Clot Formation Time (CFT, Zeitspanne in der die Gerinnselfestigkeit zwischen 2 mm und 20 mm liegt) die Parameter A5 und A10, die Maximum Clot Firmness (MCF; alle drei stellen die Gerinnselfestigkeit dar, einmal nach 5 min. + CT, einmal nach 10 min. + CT und wenn die maximale

Gerinnselfestigkeit erreicht ist) und die Maximum Lysis (ML, die in dieser Studie jedoch nicht gemessen wurde). Erhöhte oder erniedrigte Werte weisen z.B. auf eine „gestörte Gerinnungsaktivierung“ oder „abnormale Gerinnselbildung“ in dem entsprechenden Bereich der Gerinnung hin.

1.4.3 Sonstige Verfahren/Messmethoden

Um ein möglichst umfassendes Bild der Hämostase zu erhalten, wurden ergänzend zur Multiplate®- und Rotem®-Analyse weitere laborchemische Verfahren durchgeführt. So konnten die Gerinnungsfaktoren einzeln bestimmt sowie Thrombozytenzahl, vWF-AG, vWF-Aktivität und vWF-Ratio erfasst werden. Darüber hinaus erfolgte die Bestimmung der aPTT sowie des Quick-Werts (Prothrombinzeit, PT), um zusätzliche Informationen über die plasmatische Gerinnung zu gewinnen.

Zur Beurteilung des Alkoholkonsums wurden zwei Parameter berücksichtigt: Zum einen wurde die klinische BAK mittels enzymatischer Verfahren bestimmt. Zum anderen diente der CDT-Wert als Marker für chronischen Alkoholkonsum innerhalb der letzten Wochen.

Da alkoholinduzierte Gerinnungsstörungen auch durch leberassoziierte Funktionsbeeinträchtigungen bedingt sein können, wurden ergänzend die Leberenzyme ALT, AST und γ -GT bestimmt, um mögliche hepatische Ursachen von Gerinnungsanomalien ausschließen zu können. Ferner wurde eine Medikamentenanamnese erhoben, sofern möglich.

1.5. Ethanol und die Blutgerinnung – Erkenntnisse aus vorausgegangenen Studien

Die Wirkung von Ethanol auf die Hämostase ist komplex und die publizierten Folgen für die Blutgerinnung sind teilweise widersprüchlich. Frühere Arbeiten fokussierten sich dabei entweder auf einzelne Komponenten der Gerinnung, untersuchten den Einfluss moderaten Alkoholkonsums oder berücksichtigten spezifische Patientenkollektive. Eine einheitliche Bewertung des Einflusses einer akuten Alkoholintoxikation auf die umfassend erhobene, primäre und sekundäre Hämostase liegt nach hiesiger Kenntnis bislang nicht vor.

Die relevanten Manuskripte zu dieser Thematik finden sich bereits in der zugehörigen Publikation [30].

1.6. Ziel der Arbeit

Ziel dieser Arbeit war es, potenzielle diagnostische Lücken in der Bewertung der menschlichen Blutgerinnung bei hohen Blutalkoholkonzentrationen (BAK) zu identifizieren. Todesfälle aufgrund einer Alkoholintoxikation können jedoch bereits in dem hier vorwiegend interessierenden Bereich um 2‰ bis 3‰ auftreten [31]–[33]. Daher ist es selbstredend nicht möglich, einen prospektiven Alkoholtrinkversuch durchzuführen, um die entsprechenden Gerinnungsuntersuchungen zu veranlassen. Während die Auswirkungen von Ethanol auf bestimmte Organsysteme wie das Nervensystem gut untersucht sind, besteht weiterhin Unklarheit darüber, an welchen Stellen sehr hohe Blutalkoholkonzentrationen die Hämostase beeinflussen, insbesondere im Kontext akuter Traumata.

Im Fokus standen daher zwei zentrale Fragen:

1. Verändert sich die Blutgerinnung bei stark erhöhten Blutalkoholkonzentrationen – und wenn ja, in welcher Weise?
2. Lassen sich Unterschiede in der Gerinnung bei Patient*innen mit oder ohne begleitende Verletzung nachweisen?

Auf Basis dieser Fragestellungen wurde untersucht, welche Laborparameter und diagnostischen Verfahren im klinischen Alltag besonders geeignet erscheinen, um alkoholinduzierte Gerinnungsstörungen frühzeitig zu erkennen und adäquat zu therapieren. Ziel war es, praxisrelevante Erkenntnisse für die Notfallmedizin zu gewinnen und damit einen Beitrag zur besseren Einschätzung der Gerinnungssituation bei alkoholisierten Patient*innen zu leisten.

1.7. Ethikvotum

Zum Zeitpunkt der ersten Blutentnahme waren der Promovierenden die personenbezogenen Daten (Vor- und Nachname, Geburtsdatum, Geschlecht, Verdachtsdiagnose bei Aufnahme, Verletzungsstatus) bekannt. Die studienbezogene Blutprobengewinnung fand ausschließlich im Rahmen klinischerseits notwendiger Blutentnahmen bei Aufnahme statt. Die Einwilligung erfolgte rückwirkend im nüchternen Zustand. Konnte keine Einwilligung erlangt werden, wurden die bis dahin erhobenen Daten und Proben verworfen.

Für die vorliegende Untersuchung besteht ein positives Ethikvotum der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (Studiennummer: 2019-483).

2. Publikation

Schmölders RS, Hoffmann T, Hermsen D, Bernhard M, Boege F, Lau M, Hartung, B. *Evaluation of alcohol intoxication on primary and secondary haemostasis – results from comprehensive coagulation testing*. Int J Legal Med. 2025;139(2):1–12. doi:10.1007/s00414-025-03449-7



Evaluation of alcohol intoxication on primary and secondary haemostasis – results from comprehensive coagulation testing

Ronja Sabine Schmölders^{1,2} · Till Hoffmann³ · Derik Hermsen⁴ · Michael Bernhard⁵ · Fritz Boege⁴ · Michael Lau⁶ · Benno Hartung⁷

Received: 13 September 2024 / Accepted: 6 February 2025
© The Author(s) 2025

Abstract

Background Alcohol intoxication is known to affect blood coagulation. The specific effects remain poorly understood. Here, we investigate the impact of severe alcohol intoxication on blood clotting by comprehensive coagulation testing.

Methods A prospective study included 21 patients admitted to the emergency department of University Hospital Düsseldorf with severe alcohol intoxication (target blood alcohol concentration > 2 g/l). Platelet function and coagulation was compared between states of alcohol intoxication and soberness using multiple platelet function analysis, thrombelastography and determination of single coagulation factors. The same test panel was used to study in vitro-effects of ethanol on coagulation.

Results Blood alcohol was correlated with impaired platelet aggregation determined in vivo by functional testing employing ADP and ASPI stimulation. Blood alcohol-associated coagulation impairment was not detectable by thrombelastography or clotting factor measurements. Blood alcohol was negatively correlated with von Willebrand factor ratio and clot strength. The association of elevated blood alcohol with impaired coagulation could not be replicated in vitro.

Discussion Our findings suggest that alcohol impairs primary hemostasis by reducing platelet function, while secondary hemostasis remains largely unaffected. Reversion of effects upon sobering suggest a rather direct impact of alcohol on platelet function. That effect was, however, not replicated in vitro possibly implicating involvement of vascular factors.

Conclusion Blood alcohol has a potentially negative impact on platelet function, which should be considered in the clinical management of intoxicated patients, especially in emergency settings. Potential bleeding risks due to increased blood alcohol are possibly detected by analysis of platelet function, while not by thrombelastography or plasmatic coagulation tests.

Keywords Thrombelastography · Impedance aggregometry · Platelet function · Alcoholisation · Post mortem · Blood coagulation

Ronja Sabine Schmölders
Ronja.schmoelders@lvr.de

¹ Institute of Legal Medicine, University Hospital Düsseldorf, Heinrich-Heine University, Moorenstrasse 5, 40225 Düsseldorf, Germany

² Department of Psychiatry and Psychotherapy, Medical Faculty, University Hospital Düsseldorf, Heinrich-Heine University, Bergische Landstrasse 2, 40629 Düsseldorf, Germany

³ Institute of Transplantation Diagnostics and Cell Therapeutics, University Hospital Düsseldorf, Heinrich-Heine University, Moorenstrasse 5, 40225 Düsseldorf, Germany

⁴ Central Institute of Clinical Chemistry and Laboratory Diagnostics, University Hospital Düsseldorf, Heinrich-Heine University, Moorenstrasse 5, 40225 Düsseldorf, Germany

⁵ Emergency Department, University Hospital Düsseldorf, Heinrich-Heine University, Moorenstrasse 5, 40225 Düsseldorf, Germany

⁶ Mathematical Institute, Heinrich Heine University, Universitätsstr. 1, 40225 Düsseldorf, Germany

⁷ Institute of Legal Medicine, University Hospital Essen, University Duisburg-Essen, Hufelandstraße 55, 45147 Essen, Germany

Introduction

Haemostasis is a vital multi-stage process that ultimately leads to the formation of a fibrin complex to handle vascular injury [1]. At the beginning of primary haemostasis, vascular haemostasis occurs and a white thrombus is formed via the three stages of platelet adhesion, activation, and aggregation. During these processes, various proteins and messenger substances such as ADP and von Willebrand factor are released. Afterwards, plasmatic coagulation leads to a stable fibrin network via various steps. In the individual steps, plasma proteins (coagulation factors) are activated by proteolytic cleavage. The substances involved in the entire coagulation process can be measured individually. In addition, the times or effectiveness of the processes can be determined.

The observation that blood of alcohol intoxicated persons fails to coagulate post mortem can already be found in historic publications [2]. Various mechanisms have been proposed by which ethanol could influence blood coagulation:

Thrombelastometric analyses in vitro show an inhibition of blood coagulation at increasing blood alcohol concentrations (BAC). Fibrinolytic activity determined in vitro was found to be significantly impaired above a BAC of 1 g/kg, which suggests a prothrombotic effect of ethanol [3]. Inhibition of fibrinolysis at high ethanol levels was also confirmed by in vivo-studies [4, 5] of men ($N=50$, 26+—4.6 years) who had consumed various amounts of beer or red wine (20 g, 40 g, 60 g or 80 g ethanol). They exhibited a prolonged (several hours) and significant decrease of fibrinolytic activity, possibly due to concomitant increases in plasminogen-activator-inhibitor antigen (PAI-1) [4].

Confoundingly, in vivo-thrombelastometric analyses carried out in the context of socially acceptable ethanol consumption ($N=58$, $w=m$, control group 36.7 and drinkers 29.9 years on average) indicated that male individuals tend to hypocoagulate (decreased rate of fibrin formation, decreased clot strength, and a decreased rate of fibrin cross-linking), while female participants do not [6].

In a more recent ex-vivo study ($N=20$, age 29.4, $m=11$, $w=9$), thrombelastometric testing following moderate ethanol consumption (up to max. 1 g/kg) revealed a lower clot strength in the fibrinogen function test (FibTEM), while the extrinsic system test (ExTEM) and fibrinolysis showed no significant changes [7]. A divergent observation was made by a Korean study examining coagulation in patients of a trauma center ($N=686$, $m=525$, median age = 55 y) with and without alcohol intoxication. Alcoholised patients exhibited a prolonged clotting time (CT) and reduced fibrinolysis indicating a predominant impact of ethanol on ExTEM [8].

However, trauma above Injury Severity Score = 4 points, can be associated with hypercoagulation.

Trauma-associated hypercoagulation is most pronounced during the first 24 h post trauma, biased towards women, and can only be detected by thrombelastography as opposed to clotting tests such as INR and PTT [9]. A study on the overlay of injury and alcohol intoxication ($N=448$) confirmed hypocoagulation detectable by thrombelastometric examinations but not by clinical indications such as increased bleeding [10]. Follow-up studies of that cohort demonstrated alcohol-induced impairment of clot formation and inhibition of fibrinolysis [11].

Given the wide-spread and long-standing use of alcohol as stimulant and psychoactive substance [12] alcohol intoxication with or without accompanying injuries is commonly found not only post mortem, but also in emergency departments [13]. The alcohol-induced increase in bleeding risk might thus change medicolegal implications of injury combined with alcohol intoxication, raising the following questions:

- (i) How does coagulation change with very high in-vivo BACs (above 1 g/l) with or without accompanying injury?
- (ii) Which analyses might be helpful to identify such alcohol-induced coagulation dysfunctions?

To address these questions, we have performed a prospective study approved by the ethics committee of the University Hospital Düsseldorf (study no.: 2019–483).

Material and methods

Patients

The study encompasses patients ($N=21$, $m=14$, median age = 51 y, range 20–82 years) of the central emergency room of University Hospital Düsseldorf. Patients were included if at least 18 years old and exhibiting clinical signs of severe alcoholisation (clinical assessment as severe alcohol influence with e.g. foetus alcoholicus, slurred speech, significant gait unsteadiness and/or nausea/vomiting; breath alcohol concentration above 1 mg/l; clinical BAC of 2 g/l or above). Preliminary informed consent was obtained in the state of intoxication from the patients themselves or accompanying relatives. Final informed consent was obtained on the next day in the state of soberness. If the patient refused to participate, all results would be deleted and blood specimen would be disposed. Had the patient left hospital without an opportunity to clarify the question of consent, so far obtained results were stored until the patient could be asked for consent. If the patient could not be contacted, data and specimen would be deleted resp. disposed, too. Some patients agreed to the examination of blood that was already

taken but refused further blood sampling, leading to incomplete data.

Exclusion criteria were chronic alcohol abuse, suffering from established alcoholic liver injury, treatment with direct oral anticoagulants (DOACS) for up to 24 h prior to blood sampling.

Experimental set-up

When a person was potentially eligible, study blood sampling (six tubes of citrate blood, three tubes of EDTA blood—3 ml each—and two tubes of serum blood with 7.5 ml each) was carried out together with medically indicated routine sampling. In addition, the injury status was assessed.

Multiple electrode impedance platelet aggregometry (Multiplate®) and thrombelastography (ROTEM®) were carried out within four hours (average one to two hours). The remaining blood specimen were frozen until the question of informed consent was clarified as other tests could be postponed. The freezing procedure was carried out according to the manufacturer's recommendations, which are based on the CLSI (previous name: NCCLS) guidelines for pre-analytics [14]. All coagulation samples for factor analysis were centrifuged twice and the plasma was removed between centrifugations and transferred to a new tube in order to obtain plasma that was as Tc-free as possible. Subsequently, rapid freezing at -20°C . Thawing procedure also according to the recommendations of the CLSI guidelines [14]. The measured parameters are not affected by the freezing process. If test persons gave informed consent to be included into the study in the state of soberness, the medical records were taken into account and a both postponed blood analysis and follow up blood collection and analysis were performed.

Blood from the state of alcohol intoxication was analyzed regarding rotational thrombelastometry, impedance aggregometry, (both measured at the Institute of Transplantation Diagnostics and Cell Therapeutics, University Hospital Düsseldorf), BAC, carbohydrate-deficient transferrin (CDT), plasma based global coagulation tests – international normalized ratio (INR)/thromboplastin by Quick, activated partial thromboplastin time (aPTT), thrombin time –, single factor parameters – von Willebrand factor (vWF) antigen (ag)/activity/ratio, coagulation factoractivities II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII) as well as platelet count and function (these values were all measured at the Central Institute of Clinical Chemistry and Laboratory Diagnostics, University Hospital Düsseldorf).

In the second blood sample (drawn in the state of soberness), parameters for hepatocellular damage, synthesis disorders and cholestasis – Aspartat aminotransferase (AST), Alanine aminotransferase (ALT), glutamate dehydrogenase (GLDH), albumin, γ -glutamyltransferase (γ -GT), alkaline

phosphatase (AP), direct/indirect and total bilirubin, cholinesterase were determined in addition to the above-mentioned coagulation parameters. C-reactive protein (CRP) and erythrocyte indices (mean corpuscular volume – MCV) from initial testing were taken from the medical records (if available). All these parameters of the second sample were measured at the Central Institute of Clinical Chemistry and Laboratory Diagnostics, University Hospital Düsseldorf using accredited routine diagnostic procedures.

Subsequently, and separately from the tests described above, we carried out a Multiplate® in-vitro test series with blood from one healthy fasting person (female, 27 years). After taking the blood sample, we added different amounts of ethanol in vitro so to reach BAC of 0 g/kg, 1 g/kg, 2 g/kg and 4 g/kg. We then carried out Multiplate® analyses. These analyses were performed after 30 min, 2 h and 3.5 h to assess whether the time interval of alcohol contact to the blood is relevant for the results.

All tests were carried out using standardized procedures.

Laboratory analyses

Platelet function analyses (Multiplate®)

Multiplate® is a tool for testing platelet function (Multiplate®, Roche Diagnostics) by using three different activators. Adenosine-diphosphate (ADP) test is sensitive to intrinsic platelet function deficiencies as well as ADP-receptor inhibition by antiplatelet agents. Arachidonic acid (ASPI) test is an assessment of globally suppressed platelet function, and thrombin receptor activating protein-6 (TRAP-6) test allows to assess platelet function independently from antiplatelet drugs other than GPIIb-IIa antagonists. Detailed information can be found in the manufacturer's brochure [15].

It should be noted that this method used with whole blood is not suitable for reliably ruling out a platelet dysfunction; it is normally used to monitor therapy with platelet aggregation inhibitors. The method of light transmission aggregometry recommended by the German AWMF guideline [16] was not available 24/7.

Thrombelastography (ROTEM®)

ROTEM® analyzer is used to measure functional coagulation. Three different tests (ExTEM, InTEM and FibTEM) were used to assess the different parts of the coagulation system [17].

Increased or decreased values indicate, for example, impaired coagulation activation or abnormal clot formation in the corresponding area of coagulation.

Coagulation parameters

Coagulation factors (II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XII and XIII), vWF Ag, aPTT, Quick were tested by Turbidimetry (CS 5100 System, Sysmex; reagents from Siemens Healthineers).

The following remaining parameters were measured using the methods listed accordingly

Clinical BAC: Photometry, Cobas 8000, Module 701, Roche Diagnostics.

CDT: Immunonephelometry, BN II Nephelometer, Siemens Healthineers.

Platelet count: Impedance measurement, XN systems, from Sysmex.

ALT, AST, yGT: Photometry, Cobas 8000, Module 701, Roche Diagnostics.

Results

Test persons

Twenty-one patients were included (14 males, 7 females). Six patients consented to a second blood sampling for study reasons (4 males, 2 females). 15 patients agreed to include samples taken resp. analyzed in advance for study reasons. All other samples resp. results were disposed.

The test persons' average age was 49.9 years (median 51 years). The mean age of the male test persons was 54.9 years and ranged from 24 to 82 years (median 60.5). The age of the female test persons ranged from 20 to 57 years (median 41) and the mean age was 39.9 years.

Of the 21 test subjects, eleven (7 males, 4 females) had suffered from trauma. Traumas ranged from hematomas

or bruises to minor abrasions, cuts or lacerations. No polytrauma patients were included.

The average BAC at admission was 2.49 g/l (trauma 2.52 g/l; non-trauma 2.45 g/l; median 2.69 g/l). BAC ranged from 1.25 g/l to 3.79 g/l.

Medication taken

It was only possible to determine the medication status of those six people who allowed a second blood sample to be taken in the state of soberness. Three of them did not take any medication. One person only took macrogol on demand. In addition, one person was taking lamotrigine, fluoxetine, mirtazapine, zopiclone, pantoprazole, baclofen, tizanidine, levodopa, gabapentin and the last person was taking ASS, ramipril and adolipin. Results of the last two persons are highlighted in the figures.

Effects of blood alcohol on platelet function (Multiplate® analyses)

Both groups, with ($N=11$) and without ($N=10$) trauma, showed a decreasing aggregation capacity with increasing BAC (Figs. 1, 2, and 3). Correlation coefficients and p-values are shown in Table 1. Mean values were lower for all types of stimulation (Fig. 4; ADP and BAC < 2.5 g/l = 44.40% of the values were below the reference area, > 2.5 g/l = 75% of the values were below the reference area, ASPI and BAC < 2.5 g/l = 66.67%, > 2.5 g/l = 83.33%, TRAP and BAC < 2.5 g/l = 33.33%, > 2.5 g/l = 75%) for BACs below 2.5 g/l ($N=10$) as compared to > 2.5 g/l ($N=11$). ADP values were regularly below the reference interval (53U-122U; Fig. 1). TRAP values differed significantly between groups below and above 2.5 g/kg (t-test, $p=0.04$).

Multiplate® analyses in the state of soberness ($N=6$; 1 without trauma, 5 with trauma) showed that the ADP value

Fig. 1 ADP values (y-axis) in relation to the determined forensic BACs (x-axis). Orange: Patients without trauma, correlation coefficient $r = -0.46$, $p = 0.18$. Blue: Patients with trauma, correlation coefficient $r = -0.34$, $p = 0.31$. Grey: State of soberness. Hatched green area: Reference area. Dotted: Regression lines. \oplus : patient with fluoxetine and gabapentine. \ominus : patient with ASS, \circ : patients without medication

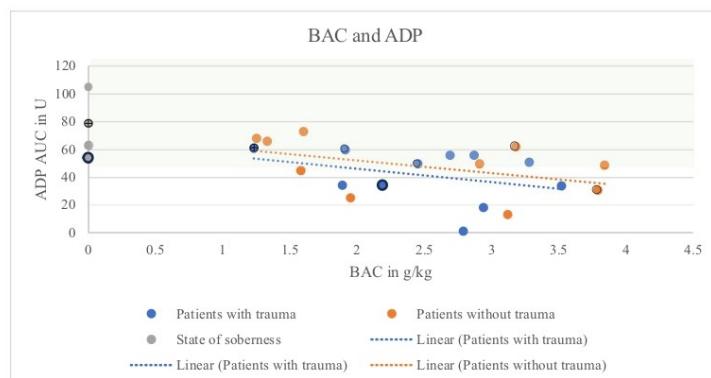


Fig. 2 ASPI values (y-axis) in relation to the determined forensic BACs (x-axis). Orange: Patients without trauma, correlation coefficient $r = -0.17$, $p = 0.66$. Blue: Patients with trauma, correlation coefficient $r = -0.12$, $p = 0.72$. Grey: State of soberness. Hatched green area: Reference area. Dotted: Regression lines. \oplus : patient with fluoxetine and gabapentine. \otimes : patient with ASS, \circ : patients without medication

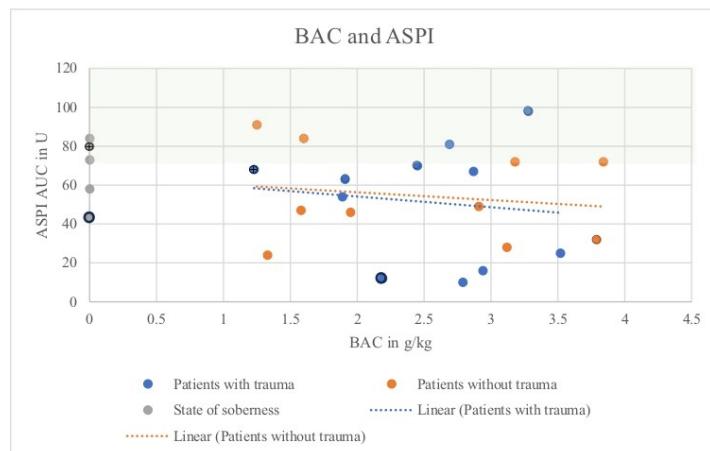


Fig. 3 TRAP values (y-axis) in relation to the determined forensic BACs (x-axis). Orange: Patients without trauma, correlation coefficient $r = -0.43$, $p = 0.28$. Blue: Patients with trauma, correlation coefficient $r = -0.23$, $p = 0.50$. Grey: State of soberness. Hatched green area: Reference area. Dotted: Regression lines. \oplus : patient with fluoxetine and gabapentine. \otimes : patient with ASS, \circ : patient without medication

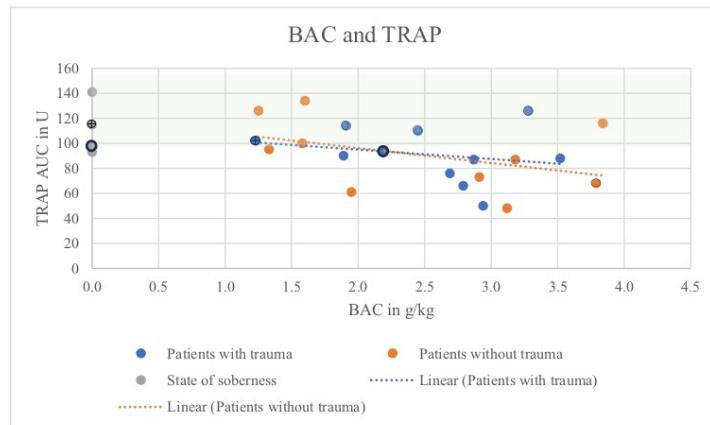


Table 1 Correlation coefficients and p -values in Multiplate® separated by groups (trauma / non-trauma)

Activator	Patient group	Correlation coefficient (r)	p -value
ADP	Patients with trauma	0.34	0.31
ADP	Patients without trauma	0.46	0.18
ASPI	Patients with trauma	0.12	0.72
ASPI	Patients without trauma	0.17	0.66
TRAP	Patients with trauma	0.23	0.50
TRAP	Patients without trauma	0.43	0.28

of an intoxicated person was lower than the sober ADP value of the same person in all cases (Fig. 5). Remarkably, ADP values were within the reference interval in the state of soberness in all cases (Figs. 1 and 5).

Detoxing was associated with increasing aggregometric capacity in 6/6 patients (ADP test), 4/6 pts. (ASPI test) and 4/6 pts. (TRAP test), respectively (Figs. 5, 6, and 7).

Fig. 4 Mean values for BAC < 2.5 g/l (black) compared to BAC > 2.5 g/l (grey) for ADP (reference interval 53U-122U, t-test: $p = 0.07$), ASPI (reference interval 74U-136U, t-test: $p = 0.41$) and TRAP (reference interval 94U-156U, t-test: $p = 0.04$)

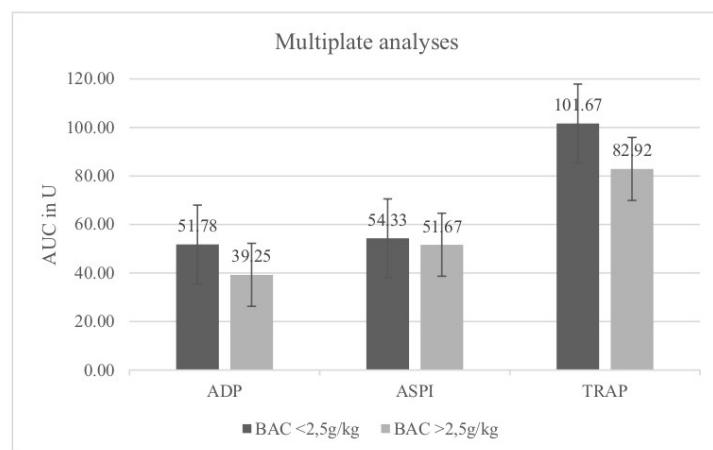
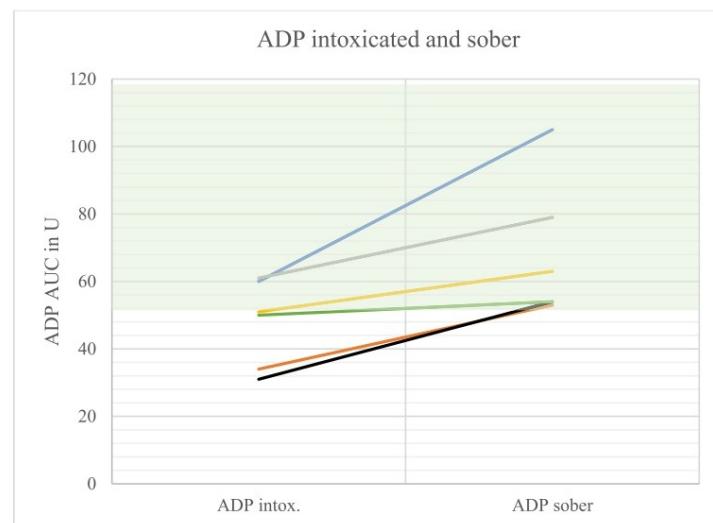


Fig. 5 Comparison of ADP values intoxicated and sober ($N = 6$). The different colors represent the different test persons. Hatched green area: Reference area. Intox. = Intoxicated



Effects of blood alcohol on platelet function (Multiplate® analyses) in vitro

In-vitro analyses ($N = 1$) did not reveal the observations mentioned above. After 30 min and 2 h, normal results were obtained. Analyses that showed conspicuous Multiplate® results (outside the reference area) were all carried out about 3.5 h after adding ethanol:

The ADP test was slightly below the normal range in all three alcohol-treated blood samples (1 g/kg: 44U, 2 g/

kg: 46U, 4 g/kg: 31U), ASPI test values were decreased at 1 g/kg (71U) and 2 g/kg (62U) and the TRAP test was only decreased in the 2 g/kg specimen (76U).

Effects of blood alcohol on thrombelastography (ROTEM® analyses)

In the ROTEM® analyses ($N = 21$), a singular patient each in the ExTEM and InTEM analysis showed a prolonged clotting time. Clot firmness in the FibTEM test was increased in

Fig. 6 Comparison of ASPI values intoxicated and sober ($N=6$). The different colors represent the different test persons. Hatched green area: Reference area. Intox. = Intoxicated

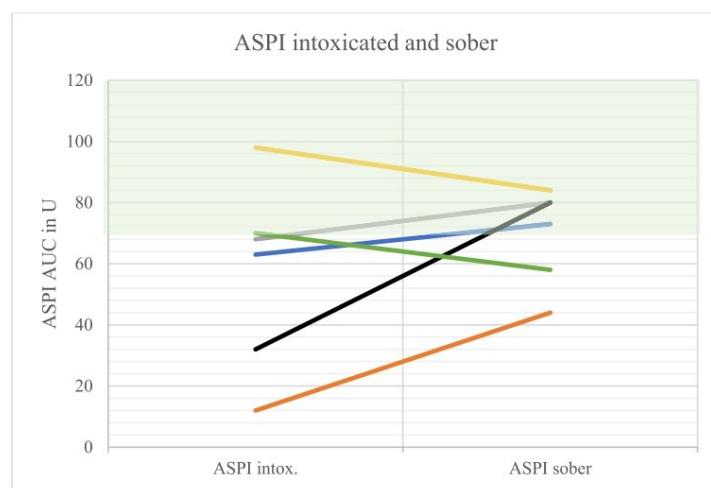
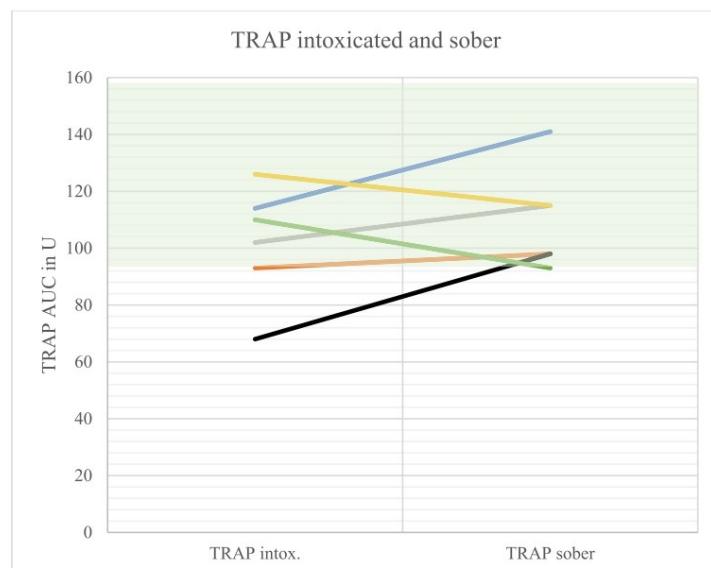


Fig. 7 Comparison of TRAP values intoxicated and sober ($N=6$). The different colors represent the different test persons. Hatched green area: Reference area. Intox. = Intoxicated



four patients. No correlation was observed between thromboelastometric parameters and BAC. All results can be found in Supplement 1.

Results from extrinsic and intrinsic as well as von Willebrand factor testing are shown in Table 2 (measuring the coagulation factors, only possible in 19 test persons):

Overall, no significant deficits were observed, while increased factor antigen was a frequent finding.

For activities of factors II positive correlations were found with BAC ($N=19$; Pearson's correlation coefficient $r=0.20$, $p=0.41$). The von Willebrand factor ratio

Table 2 Extrinsic, intrinsic and von Willebrand factor test results

	Coagulation factors	Normal range (%) Numbers above Numbers below	Mean (%) patients with trauma patients with- out trauma	Median (%) patients with trauma patients with- out trauma	Range (%) patients with trauma patients without trauma
Factor II	70 - 100	96.74	90.00	74-146	
	4	93.20	88.50	74-119	
	0	100.67	92.00	84-146	
Factor V	70 - 100	84.95	85.00	31-160	
	4	85.10	93.50	33-120	
	5	84.78	71.00	31-160	
Factor VII	70 - 140	118.47	110.00	76-172	
	6	119.50	126.00	76-160	
	0	117.33	105.00	85-172	
Factor VIII	70 - 200	119.26	106.00	63-232	
	2	121.40	104.50	76-216	
	1	116.89	106.00	63-232	
Factor IX	70 - 110	101.79	96.00	75-165	
	5	100.20	99.00	82-136	
	0	103.56	96.00	75-165	
Factor X	70 - 140	108.79	109.00	74-169	
	1	109.20	108.00	88-133	
	0	108.33	109.00	74-169	
Factor XI	70 - 120	94.95	90.00	65-136	
	11	96.90	96.00	65-134	
	0	92.78	84.00	69-136	
Factor XII	80 - 120	96.63	88.00	59-154	
	3	98.40	99.00	76-135	
	4	94.67	81.00	59-154	
Factor XIII	80 - 120	128.57	138.00	85-165	
	13	128.73	138.00	85-165	
	0	128.40	134.50	86-165	
Quick	77 -120	104.67	107.50	84-140	
	5	102.44	107.00	88-140	
	0	106.89	110.00	84-126	
aPTT*	20-40	24.68	25	21-32	
	0	25.40	25	22-32	
	0	23.89	24	21-27	
vWF-Activity	48 - 240	167.71	164.50	84.6-237.3	
	1	163.42	153.00	84.6-226	
	0	172.43	170.55	101.7-237.3	
vWF-Antigen	50 - 160	167.57	151.70	102.8-245.3	
	10	161.15	151.70	102.8-237.4	
	0	174.62	160.95	119.9-245.3	

*in seconds not in %

(activity / antigen) as an indicator for large multimer function was negatively correlated with BAC ($N=21$; normal range: > 0.700 ; mean: 0.999; median: 0.96; range: 0.76–1.27; correlation coefficient $r = -0.41$; $p = 0.06$).

Effects of blood alcohol on chemistry parameters

Clinical chemistry parameters (AST, ALT, GLDH, MCV, albumin, gamma-GT, alkaline phosphatase, direct/indirect and total bilirubin, cholinesterase) showed no abnormalities,

with the exception of two subjects (both with trauma, Patient A: male, 61 years, Patient B: female, 34 years), who showed elevated transaminases (ALT: 330 U and 128 U, AST: 183 U and 277 U, gamma-GT: 256 and 916 U).

Patient A presented very low values in the Multiplate® analyses (ADP=18 U, ASPI=16 U and TRAP=50 U), otherwise coagulation results were with a tendency to lower normal ranges.

Patient B presented only a borderline ADP value of 51 U. She also showed elevated F II (119%), F V (120%), F XII (135%), F XIII (138%) and borderline elevated FibTEM (CT=63 mm, A5=127 mm) and ExTEM (A5=59 mm, A10=67 mm).

Discussion

Relevance of the issue

In 2021, there were 69,269 hospital admissions due to acute alcohol intoxication [18]. Entire coagulation profiles are not carried out routinely in an emergency setting. The European guidelines on management of major bleeding and coagulopathy following trauma recommend platelet count, Quick/INR, prothrombin time and fibrinogen level for screening coagulation deficits [19].

In the presented examinations comprehensive coagulation profiles were determined in persons with high BAC in order to identify possible diagnostic gaps.

Salient findings and comparison with previous studies

In fact, alcohol-associated alterations of the platelet function, which might be clinically relevant were observed. Multiplate® analyses revealed a reduced aggregometric capacity especially after ADP and ASPI stimulation. Hillbom et al. [20] found that thrombocyte aggregation is only inhibited 10 min after ethanol intake and then increases again. We were unable to confirm this assumption. The blood samples were taken during treatment in the emergency room, 10 min were certainly exceeded since the beginning and also termination of alcohol intake, and our results nevertheless indicated a remaining impairment of platelet function.

ADP is a weak stimulator of platelet aggregation [21] and is altered by smallest changes in platelet function [22]. The changes seen in the ADP test during severe alcohol intoxication can be attributed to the effects of alcohol. In certain alcoholised patients, their blood showed a limited platelet function. Reliable information as to the intake of antiplatelet drugs was not available. We suppose that increasing and normalising ADP-induced aggregation was not influenced by antiplatelets as ADP-receptor antagonist medication is

not frequent and the personal history of the patients under investigation was free of diseases with might have caused an indication for ADP-receptor antagonist treatment. Nevertheless, it must be considered that very low ASPI values may also be caused by ASA/NSAID analgesics [23]. Therefore, results without comparison analyses on the next day must be interpreted with caution.

Interestingly, normalisation of the aggregometric capacity during detoxication, which was observed with all types of stimulation, was complete only with ADP values ($N=6$ each). The authors do not consider decreased aggregometric platelet capacity (to a limited extend of <20%, with absolute values in or near to the normal range) in two of six patients pathophysiologically relevant.

In six patients with follow-up testing (see Fig. 5, 6, and 7) the drug history was complete. One patient (orange line) had taken Aspirin, which explains improved platelet function with ASPI testing, but not with TRAP or ADP. A second patient (grey line) had prior gabapentin intake, which may explain improved platelet function in all three tests in the status of soberness (after gabapentin was paused). Overall improved platelet function during detoxing seems not to be explained by decreasing drug effects; but this hypothesis has to be substantiated with a higher number of cases.

Only few studies investigated primary blood coagulation at high alcohol concentrations in-vivo [3, 5, 7]. However, most studies relate to plasmatic coagulation only.

Nguyen did not investigate the effect of ethanol on aggregation but on the adhesion of platelets to collagen using platelets isolated from human donor blood samples [24]. Ethanol was found to inhibit the formation of TXA2 and reduce collagen-induced phosphorylation of phospholipase A2. The results of our ASPI-test also indicated an influence of alcohol on the formation of TXA2. The specific influence could not be determined.

Von Willebrand factor was addressed as the second player in primary hemostasis. An increase in vWF leads to an improvement in primary hemostasis, which is therapeutically utilized in mild forms of congenital thrombopathies through the administration of desmopressin [25]. An acute-phase reaction can also lead to an increase in vWF antigen levels. However, since the other parameters (Albumin, CRP, Leukocytes) typically altered during an acute-phase reaction remained within the normal range, this explanation seems unlikely as the underlying cause. Nevertheless, if the acute-phase reaction is indeed responsible for the increase, it could suggest that the alcohol-induced mild thrombopathy was at least partially compensated in some patients by this reaction. The ratio of factor activity and antigen which reflects functionally important large multimers, was found to weakly correlate with the BAC ($r=-0.41, p=0.06$), meaning that increasing BACs lead to lower ratios. Further investigations including multimer

testing should address the potential that high BAC can impair von Willebrand factor related hemostasis.

Studies with focus on platelet function also concluded that increased ethanol consumption leads to an impairment of the primary hemostasis phase, more precisely to reduced platelet aggregation in response to ADP and collagen [26–31]. However, ethanol was sometimes consumed over several weeks and the BAC at the time of blood sampling was not as high as in the presented data set. In Smith's study, in which the breath alcohol level was 0.08 mg/dl (approx. 1.6 g/kg), changes were only seen in men [29]. Of course, it cannot be ruled out that a higher BAC would also have resulted in a change in women. In the conducted examinations gender-related differences did not become evident. However, the data set is too small for a thorough gender-specific analysis.

When comparing the presented results of persons with trauma with those of persons without trauma, there were no remarkable differences in the various examinations. Mean ADP test values were slightly lower in persons with trauma (41.4 U) than without trauma (48.2 U), though. However, in both groups the ADP test values of alcoholised persons increased in the state of soberness. Also, the traumas were not severe enough to cause hemorrhagic coagulopathy, but they may have contributed to hemostatic activation. Overall, it remains likely that alcohol is the cause of the change of platelet function.

The authors cannot present a convincing explanation why the abnormal results of Multiplate analyses could not be provoked in the same way by ex-vitro addition of ethanol ($N=1$). A possible explanation could be the short exposure time of alcohol on blood, so full effects could not develop. In vivo, the alcohol penetrates the human cell and is degraded there, which might be a time-dependent process [32]. An interesting alternative explanation could be that the degradation product of alcohol, acetaldehyde, instead of ethanol itself leads to changes in coagulation. Follow-up studies are required to pursue these options.

As compared to light transmission aggregometry impedance aggregometry has reduced sensitivity [33]. Thus the degree of impaired platelet capacity associated with alcohol intoxication might methodologically be underestimated in our study.

An impairment of platelet function could be particularly relevant for clinicians, as precaution measures could be taken for people who come to the emergency department heavily intoxicated and with injuries to avoid being exposed to the risk of increased bleeding.

No deficits in secondary hemostasis putting alcoholised patients at a bleeding risk were seen. This is true for the results from viscoelastic testing as well as conventional testing (global tests and single factor activities).

Overall, there are indications of typical changes in coagulation at very high in vivo BACs (starting at about 2 g/l) both with and without accompanying injuries. Nevertheless, our initial question cannot be fully answered, which is partly due to the small number of subjects included. In order to gain clarification, additional research methods must certainly be considered. Concluding, there appears to be a potential trend towards an impairment of platelet function at high BAC in-vivo.

Conclusions

- Within the limitations of the study, our findings suggest alcohol-induced changes in platelet function. Secondary hemostasis does not appear to be affected by alcohol.
- Accordingly, the focus of further studies should be on the investigation of platelet function.
- Von Willebrand factor multimer testing may clarify further impairment of primary haemostasis by high BAC
- In particular, multimeric tests should be performed to investigate whether high BAC impair the hemostasis associated with von Willebrand factor. In vitro effects of ethanol on blood coagulation are not directly comparable to the coagulation changes observed in vivo in alcoholised individuals.

Limitations

The study is based on a comparatively small number of participants. Possible confounders of coagulation analytic (trauma – non-trauma, males—females) could not be evaluated in more detail. Many participants exhibited low adherence to medical advice. For that reason, control examinations in the state of soberness could not be realized in all cases. Results obtained without soberness control must be considered with caution, given uncertainties regarding the medication history of many participants.

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s00414-025-03449-7>.

Author contributions All authors contributed to the study conception and design. Material preparation and data collection were performed by Ronja Sabine Schmölders. The data was analysed by Ronja Sabine Schmölders, Benno Hartung, Till Hoffmann and Derik Hermen. The first draft of the manuscript was written by Ronja Sabine Schmölders and all authors commented on previous versions of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Funding Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL. No funding was received to assist with the preparation of this manuscript.

Data availability The datasets generated during and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Declarations

Ethical conduct The experiments of this study comply with the current German law. The study protocol was approved by the ethics committee of the University Hospital Düsseldorf (study no.: 2019-483). The procedures used in this study adhere to the tenets of the Declaration of Helsinki.

Consent to participate Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.

Conflict of interest The authors declare that they have no competing interest.

Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

References

1. Pape HC, Kurtz A, Silbernagl S (eds) (2019) "Physiologie", 9th edn. Stuttgart, Thieme, p 120
2. Will OF (1831) Ueber vergiftung: Inaugurai-abhandlung. Würzburg University Press
3. Engström M, Schötz U, Reinstrup P (2006) Ethanol impairs coagulation and fibrinolysis in whole blood: A study performed with rotational thromboelastometry. *Blood Coagul Fibrinolysis* 17(8):661–665. <https://doi.org/10.1097/MBC.0b013e32801010b7>
4. Van De Wiel A, Van Golde PM, Kraaijenhagen RJ, Von Dem Borne PAK, Boume BN, Hart HC (2001) Acute inhibitory effect of alcohol on fibrinolysis. *Eur J Clin Invest* 31(2):164–170. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2362.2001.00773.x>
5. Banach J et al (2013) Short-term alcohol consumption may have detrimental effect on fibrinolysis and endothelial function: Preliminary report of prospective randomised study. *Kardiol Pol* 71(11):1161–1167. <https://doi.org/10.5603/KPa2013.0085>
6. Spoerke N et al (2010) Effects of Ethanol Intoxication and Gender on Blood Coagulation. *J Trauma - Inj Infect Crit Care* 68(5):1106–1110. <https://doi.org/10.1097/TA.0b013e3181d86860>
7. Eismann H et al (2020) Influence of alcohol consumption on blood coagulation in rotational thromboelastometry (Rotem): An *in vivo* study. *Korean J Anesthesiol* 73(4):334–341. <https://doi.org/10.4097/kja.20071>
8. Wang JI et al (2012) Effect of acute alcohol intoxication on mortality, coagulation, and fibrinolysis in trauma patients. *PLoS One* 16(3):1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248810>
9. Schreiber MA et al (2005) Hypercoagulability is most prevalent early after injury and in female patients. *J Trauma - Inj Infect Crit Care* 58(3):475–481. <https://doi.org/10.1097/01.TA.0000153938.77777.26>
10. Howard BM et al (2014) The effects of alcohol on coagulation in trauma patients: Interpreting thrombelastography with caution. *J Trauma Acute Care Surg* 77(6):865–871. <https://doi.org/10.1097/TA.0000000000000357>
11. Howard BM et al (2018) Exposing the bidirectional effects of alcohol on coagulation in trauma: Impaired clot formation and decreased fibrinolysis in rotational thromboelastometry. *J Trauma Acute Care Surg* 84(1):97–103. <https://doi.org/10.1097/TA.0000000000001716>
12. World Health Organization: Alcohol – Key facts. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/alcohol>. Accessed 02 Sept 2024
13. Griswold MG et al (2018) Alcohol use and burden for 195 countries and territories, 1990–2016: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet* 392(10152):1015–1035. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31310-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31310-2)
14. CLSI (2023) Handling, transport, processing, and storage of blood specimens for routine laboratory examinations, 1st edn. CLSI guideline PRE04. Clinical and Laboratory Standards Institute. <https://clsit.org/standards/products/preexamination-processes/documents/pre04/>
15. Roche Diagnostics International Ltd (2013) Multiplate® analyzer A reliable tool for platelet function testing. [Online]. Available: <https://diagnostics.roche.com/global/en/products/instruments/multiplate-5-analyzer-ins-3691.html#productInfo>. Accessed 03 Apr 2020
16. Streif W, Knöfler R, Gebetsberger J (2024) "Diagnose von Thrombozytentfunktionsstörungen - ThrombozytopathienSk-leitlinie, Interdisziplinäre," AWWMF online. <https://register.awmf.org/de/leitlinien/detail/086-003>. Accessed 10 Nov 2024
17. Calatzis A, Spannagl M, Vorweg M (2014) "ROTEM Analyse - Zielgerichtete Behandlung akuter Hämostasestörungen". Guideline [Online]
18. Federal Statistical Office of Germany 2024 https://www.destatis.de/DE/Presse/Pressemitteilungen/Zahl-der-Woche/2023/PD23_05_p002.html (accessed Sep. 02, 2024)
19. Rossaint R et al (2023) The European guideline on management of major bleeding and coagulopathy following trauma: sixth edition. *Crit Care* 27(1):1–74. <https://doi.org/10.1186/s13054-023-04327-7>
20. Hillbom M, Kangasaho M, Kaste M, Numminen H, Vapaatalo H (1985) Acute ethanol ingestion increases platelet reactivity: Is there a relationship to stroke? *Stroke* 16(1):19–23. <https://doi.org/10.1161/01.STR.16.1.19>
21. James D, Dangelmaier LC, Jin J, Kim YB, Kunapuli SP (1999) Role of intracellular signaling events in ADP-induced platelet aggregation. *Thromb Haemost* 82(4):1322–1326. <https://doi.org/10.1055/s-0037-1614384>
22. Puri RN, Colman RW (1997) ADP-induced platelet activation. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 32(6):437–502. <https://doi.org/10.3109/10409239709082000>
23. Jámbró C et al (2009) Whole blood multiple electrode aggregometry is a reliable point-of-care test of aspirin-induced platelet dysfunction. *Anesth Analg* 109(1):25–31. <https://doi.org/10.1213/ane.0b013e3181a27d10>
24. Nguyen A, Packham MA, Rand ML (1999) Effects of ethanol on platelet responses associated with adhesion to collagen. *Thromb Res* 95(6):303–314. [https://doi.org/10.1016/S0049-3848\(99\)00050-X](https://doi.org/10.1016/S0049-3848(99)00050-X)
25. Tauer JT, Gneuss A, Lohse JE, Jürgens T, Knöfler R (2011) Evaluation of desmopressin effect on primary haemostasis in pediatric patients with aspirin-like defect as hereditary thrombocytopeny.

- Klin Pediatr 223(3):169–172. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1275347>
26. Haut MJ, Cowan DH (1974) The Effect of Ethanol on Hemostatic Properties of Human Blood Platelets. *Am J Med* 56(1):22–33. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(74\)90747-5](https://doi.org/10.1016/0002-9343(74)90747-5)
27. Pikaar NA et al (1987) Effects of moderate alcohol consumption on platelet aggregation, fibrinolysis, and blood lipids. *Metabolism* 36(6):538–543. [https://doi.org/10.1016/0026-0495\(87\)90163-6](https://doi.org/10.1016/0026-0495(87)90163-6)
28. Zhang QH, Das K, Siddiqui S, Myers AK (2000) Effects of acute, moderate ethanol consumption on human platelet aggregation in platelet-rich plasma and whole blood. *Alcohol Clin Exp Res* 24(4):528–534. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2000.tb02021.x>
29. Smith S, Fair K, Goodman A, Watson J, Dodgion C, Schreiber M (2019) Consumption of alcohol leads to platelet inhibition in men. *Am J Surg* 217(5):868–872. <https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2019.02.020>
30. Elmér O, Göransson G, Zoucas E (1984) Impairment of Primary Hemostasis and Platelet Function after Alcohol Ingestion in Man. *Pathophysiol Haemost Thromb* 14(2):223–228. <https://doi.org/10.1159/000215060>
31. Giedroj J, Bodzenta-Lukaszyk A, Khuczko J, Galar M, Bielawiec M (1992) [Effect of ethyl alcohol on selected parameters of the hemostasis system in vitro]. *Pol Tyg Lek* 47(5–6):126–8 Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1437799>
32. Paton A (2005) Alcohol in the body: Author's reply. *Clin Rev* 330(7493):732–733. <https://doi.org/10.1136/bmj.330.7493.732-c>
33. Al Ghathithi R, Drake S, Watson SP, Morgan NV, Harrison P (2017) Comparison of multiple electrode aggregometry with luminaaggregometry for the diagnosis of patients with mild bleeding disorders. *J Thromb Haemost* 15(10):2045–2052. <https://doi.org/10.1111/jth.13784>

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

3. Zusätzliche Ergebnisse

3.1. Genderunterschiede

3.1.1 Multiplate®

In der Studie konnten Proben von 14 männlichen und 7 weiblichen Probanden untersucht werden. In der Multiplate®-Analyse zeigte sich bei den weiblichen Probanden im ADP-, ASPI- und TRAP-Test eine - statistisch nicht signifikante - negative Korrelation bei steigenden BAKen. Bei Betrachtung der gesamten Probandengruppe war diese ebenfalls vorhanden [30]. Bei den männlichen Probanden konnte nur im TRAP-Test eine leichte, nicht signifikante negative Korrelation festgestellt werden, im ADP und ASPI-Test konnte anhand der Korrelation keine Tendenz abgeleitet werden. Die Korrelationen und dazugehörigen p-Werte sind in Tabelle 2 dargestellt.

ADP-Werte in Beziehung zur klinischen BAK im Geschlechtervergleich

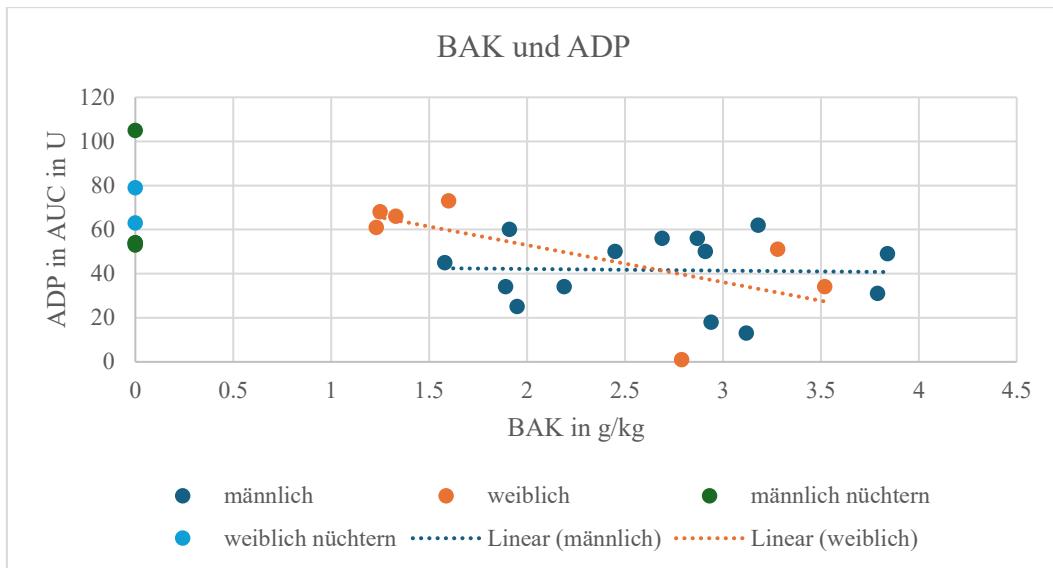


Abb. 1: ADP-Werte (y-Achse) im Vergleich zur BAK (x-Achse). Dunkelblau: männliche Patienten, Korrelationskoeffizient=-0.03, p-Wert=0,91. Orange: weibliche Patientinnen, Korrelationskoeffizient=-0.67, p-Wert=0,10. Grün: männliche Nüchternkontrollen. Hellblau: weibliche Nüchternkontrollen. Gepunktete Linien: Regressionslinien

ASPI-Werte in Beziehung zur klinischen BAK im Geschlechtervergleich

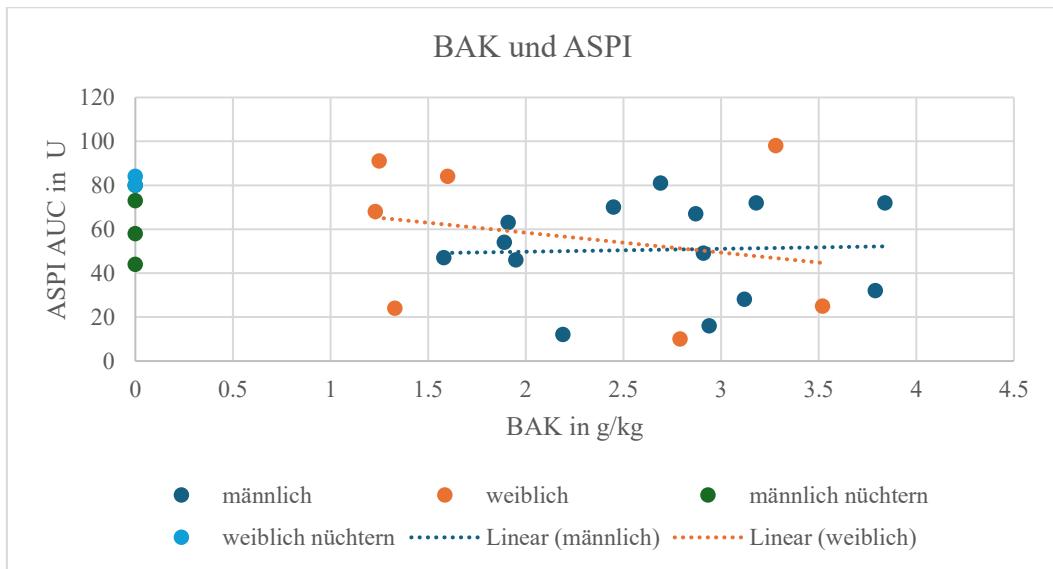


Abb. 2: ASPI-Werte (y-Achse) im Vergleich zur BAK (x-Achse). Dunkelblau: männliche Patienten, Korrelationskoeffizient=0,04, p-Wert=0,88. Orange: weibliche Patientinnen, Korrelationskoeffizient=-0,25, p-Wert=0,59. Grün: männliche Nüchternkontrollen. Hellblau: weibliche Nüchternkontrollen. Gepunktete Linien: Regressionslinien

TRAP-Werte in Beziehung zur klinischen BAK im Geschlechtervergleich

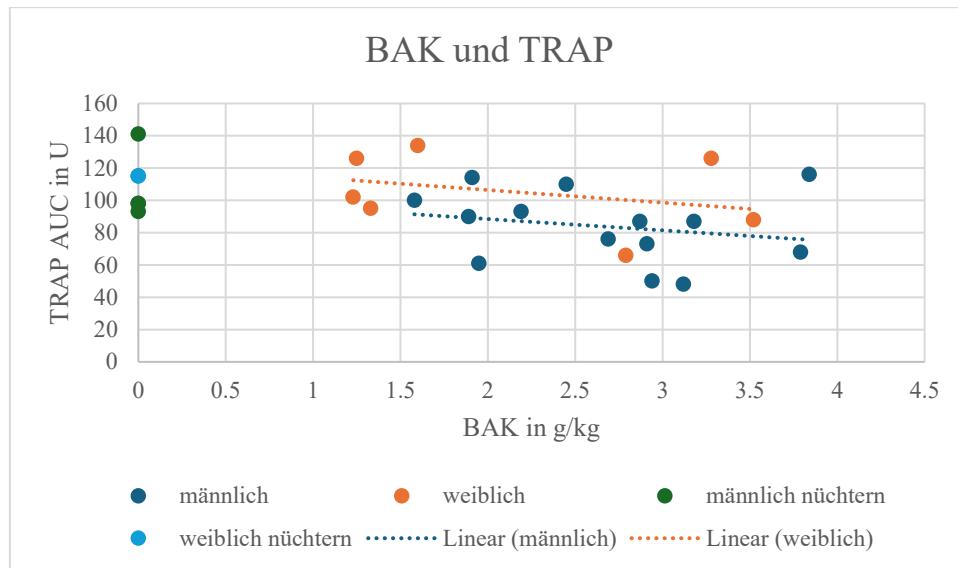


Abb. 3: TRAP-Werte (y-Achse) im Vergleich zur BAK (x-Achse). Dunkelblau: männliche Patienten, Korrelationskoeffizient=-0.22, p-Wert=0,45. Orange: weibliche Patientinnen, Korrelationskoeffizient=-0.32, p-Wert=0,48. Grün: männliche Nüchternkontrollen. Hellblau: weibliche Nüchternkontrollen. Gepunktete Linien: Regressionslinien

Tabelle 2: Korrelationen und dazugehörigen p-Werte der verschiedenen Multiplate®-Tests

Aktivator	Probandengruppe	Korrelationskoeffizient	p-Wert
ADP	weiblich	-0.67	0.10
ADP	männlich	-0.03	0.91
ASPI	weiblich	-0.25	0.59
ASPI	männlich	0.04	0.88
TRAP	weiblich	-0.32	0.48
TRAP	männlich	-0.22	0.45

3.1.2 Von Willebrand-Faktor Ratio

In der geschlechterspezifischen Analyse der Ratio des vWF zeigten sich Unterschiede in den Mittel- und Medianwerten zwischen Frauen und Männern. Bei den weiblichen Probanden lag der Mittelwert bei 1,10, der Median bei 1,13. Im Vergleich dazu wiesen die männlichen Probanden einen geringeren Mittelwert von 0,95 sowie einen Median von 0,95 auf.

Zur weiteren Bewertung möglicher Zusammenhänge wurde eine Korrelationsanalyse durchgeführt. Bei den Frauen ergab sich ein negativer Korrelationskoeffizient von $r = -0,31$, bei einem p-Wert von 0,49. Auch bei den Männern wurde ein negativer Zusammenhang beobachtet ($r = -0,32$), wobei der p-Wert bei 0,27 lag. Beide Ergebnisse deuten zwar auf eine schwache negative Korrelation hin, erreichen jedoch keine statistische Signifikanz.

4. Diskussion

4.1 Genderunterschiede

Bei der Ratio des vWF zeigte sich bei beiden Geschlechtern eine negative Korrelation bei steigender BAK, was den möglichen Einfluss der eingeschränkten großen Multimerfunktion auf die Gerinnung unter Alkoholkonsum bekräftigt. Hingegen konnten in den Multiplate®-Analysen Unterschiede bei den Geschlechtern festgestellt werden. Analog zu den Gesamtergebnissen ergaben auch die Ergebnisse der ADP-, ASPI- und TRAP-Messungen kleinere Werte, bei steigenden Blutalkoholkonzentrationen. Bei den Männern ließ sich eine solche negative Korrelation im ADP- und TRAP-Test nicht zeigen. Somit könnte nicht nur der Alkoholkonsum, sondern auch das Geschlecht einen Einfluss auf die Gerinnungsfunktion gehabt haben.

4.2 Was bedeutet ein erhöhtes Blutungsrisiko durch Alkoholkonsum im klinischen Alltag?

Wenn es durch den Konsum von Alkohol zu einer Beeinträchtigung der Thrombozytenfunktion kommt, kann dies zu hämostaseologischen Komplikationen im klinischen Alltag führen. Infolge der gestörten primären Hämostase kann es zu einer verlängerten Blutungszeit kommen, was insbesondere bei operativen oder invasiven Eingriffen klinisch bedeutsam wäre [34].

Die Konsequenzen könnten ein erhöhter Blutverlust bei größeren Verletzungen oder postoperative Nachblutungen, insbesondere bei notfallmäßigen Operationen, sein, bei denen eine präoperative Optimierung der Gerinnung nicht möglich ist. In diesen Situationen kann das Risiko für das Auftreten eines hämorrhagischen Schocks deutlich ansteigen. Dies ist wiederum mit einer erhöhten Mortalität [35] sowie einem verlängerten stationären Aufenthalt assoziiert [36].

Zusätzlich problematisch ist die häufige Kombination von Alkoholkonsum mit gerinnungshemmender Medikation, wie etwa Thrombozytenaggregationshemmern oder oralen Antikoagulanzien. Diese Interaktionen können das Blutungsrisiko weiter potenzieren und erfordern daher ein besonderes Augenmerk im klinischen Alltag.

4.3 Optimierung der Versorgung in der Notaufnahme

Um die beschriebenen Risikofaktoren und möglichen Komplikationen bei alkoholintoxizierten Personen (mehr als 2 %) zu minimieren, ist zunächst ein gutes Screening in der ersten Kontaktphase mit einem/r Patienten/in notwendig. Hierzu gehören eine ausführliche Anamnese und Dokumentation im Hinblick auf den Konsum von Alkohol, das Erfassen bekannter Gerinnungsstörungen oder regelmäßiger Medikamenteneinnahme und die Bestimmung des Atemalkohols. Die erhobenen Befunde könnten z.B. in standardisierten klinischen Protokollen festgehalten werden. Auch wäre die Verwendung von Checklisten möglich, um die potenziellen Risikofaktoren systematisch zu erfassen.

Allerdings hat diese Arbeit auch gezeigt, dass eine vollständige Anamnese in solchen Fällen sehr schwer möglich ist und dass die Compliance bzw. Adhärenz der Patient*innen gering ist. Blutungsfördernde Substanzen müssten ggf. pausiert oder umgestellt werden. Bei akutem Alkoholkonsum sollte eine engmaschige Überwachung der Hämostase erfolgen, insbesondere in Zusammenhang mit invasiven Maßnahmen. Hier wäre dann auch eine gute interdisziplinäre Zusammenarbeit wichtig. Darüber hinaus kann bei zusätzlichen größeren Verletzungen das frühzeitige Bereitstellen von Blutprodukten erwogen werden.

4.4 Schlussfolgerungen und Ausblick

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass eine akute Alkoholintoxikation mit einer messbaren und potenziell klinisch relevanten Veränderung der Hämostase einhergehen kann. Insbesondere die Thrombozytenfunktion war bei hoher Alkoholkonzentration beeinträchtigt. Darüber hinaus ergeben

sich Hinweise, dass das Geschlecht einen Einfluss auf diese Beeinträchtigung haben könnte. Insgesamt sollte der Alkoholkonsum als möglicher relevanter Einflussfaktor auf die Hämostase stärker berücksichtigt werden.

Für den klinischen Alltag – insbesondere in der notfallmedizinischen Versorgung – könnte eine detaillierte Anamnese in Bezug auf einen unmittelbaren Alkoholkonsum hilfreich sein, um das Risiko einer gestörten Gerinnung frühzeitig zu identifizieren und adäquat zu therapieren.

Zukünftige Studien sollten neben denen in der Publikation genannten Aspekten (Fokussierung auf die Thrombozytenfunktion und von-Willebrand-Faktor Multimer Tests) [30] insbesondere die Rolle des Geschlechts sowie die Interaktion mit gerinnungsaktiven Medikamenten weiter untersuchen. Langfristig könnten die gewonnenen Erkenntnisse in die Entwicklung klinischer Entscheidungsalgorithmen einfließen, um das Management alkoholintoxizierter Patient*innen weiter zu optimieren.

5. Literatur- und Quellenverzeichnis

- [1] Haus Vingolf. Alkohol im Mittelalter [Internet]. o. D. Verfügbar unter: <https://www.haus-vingolf.de/alkohol-im-mittelalter> [Zugriff am 12.06.2025].
- [2] Deutsche Hauptstelle für Suchtfragen e. V. Zahlen, Daten, Fakten: Alkohol [Internet]. o. D. Verfügbar unter: <https://www.dhs.de/suechte/alkohol/zahlen-daten-fakten/> [Zugriff am 12.06.2025]
- [3] Statistisches Bundesamt. Zahl der Woche: Alkoholintoxikationen [Internet]. 2025. Verfügbar unter: https://www.destatis.de/DE/Presse/Pressemitteilungen/Zahl-der-Woche/2025/PD25_09_p002.html [Zugriff am 12.06.2025].
- [4] Koch A, Herbers U. Erkrankungen der Leber. Ernährung & Medizin. 2016 Jun;31(02):57–61. doi:10.1055/s-0042-107907.
- [5] Statistisches Bundesamt. Statistischer Bericht: Todesursachen in Deutschland [Internet]. 2024. Verfügbar unter: https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Gesundheit/Todesursachen/_inhalt.html [Zugriff am 12.06.2025].
- [6] Wiegand J, Berg T. The Etiology, Diagnosis and Prevention of Liver Cirrhosis. Dtsch Arztbl Int. 2013 Feb;110(6):85–91. doi:10.3238/atztbl.2013.0085.
- [7] Bundesministerium für Gesundheit. Alkohol – Informationen von A bis Z [Internet]. o. D.

Verfügbar unter: <https://www.bundesgesundheitsministerium.de/service/begriffe-von-a-z/a/alkohol.html> [Zugriff am 12.06.2025].

- [8] Gollmann D. *Vom deutschen Bier*. Dortmund: Ardey; 2006.
- [9] Teyssen S, Singer MV. Alkohol und Alkoholfolgekrankheiten. *Dtsch Med Wochenschr*. 2005;130(51):2829–35.
- [10] Zakhari S. Overview: How Is Alcohol Metabolized by the Body? *Alcohol Res Health*. 2006;29(4):245–54.
- [11] Paton A. Alcohol in the body: Author's reply. *Clin Rev*. 2005;330(7493):732–3. doi:10.1136/bmj.330.7493.732-c
- [12] Mellanby E. Alcohol: its absorption into and disappearance from the blood under different conditions. *Med Res Comm*. 1919;7:1–42.
- [13] Edwards Z, Preuss CV. GABA Receptor Positive Allosteric Modulators. *StatPearls*. 2020;1–4. PMID: 32119330.
- [14] Yoshimoto K, McBride WJ, Lumeng L, Li TK. Ethanol enhances the release of dopamine and serotonin in the nucleus accumbens of HAD and LAD lines of rats. *Alcohol Clin Exp Res*. 1992 Aug;16(4):781–5. doi:10.1111/j.1530-0277.1992.tb00678.x.
- [15] Söderpalm B, Ericson M. Alcohol and the dopamine system. *Int Rev Neurobiol*. 2024;161:21–73.
- [16] Belmer A, Patkar OL, Pitman KM, Bartlett SE. Serotonergic Neuroplasticity in Alcohol Addiction. *Brain Plast*. 2016;1(2):177–206. doi:10.3233/bpl-150022.
- [17] Hoffman PL, Rabe CS, Grant KA, Valverius P, Hudspith M, Tabakoff B. Ethanol and the NMDA Receptor. *Alcohol*. 1990;7(3):229–31. doi:10.1016/0741-8329(90)90010-A.
- [18] Ron D, Wang J. The NMDA Receptor and Alcohol Addiction. In: *Advances in Pharmacology*. 2009;56:1–12.
- [19] Attilia F, Perciballi R, Rotondo C, Capriglione I, Santangelo R, Attilia ML, et al. Alcohol withdrawal syndrome: diagnostic and therapeutic methods. *Rev Recent Clin Trials*. 2018;13(3):118–22.
- [20] Pape HC, Kurtz A, Silbernagl S. *Physiologie (Silbernagl)*. 9th ed. Stuttgart: Thieme; 2019.

- [21] Ueno M, Kodali M, Tello-Montoliu DJA. Role of Platelets and Antiplatelet Therapy in Cardiovascular Disease. *J Atheroscler Thromb.* 2011;18(6):431–42. doi:10.5551/jat.7633.
- [22] Palta S, Saroa R, Palta A. Overview of the coagulation system. *Indian J Anaesth.* 2014;58(5):515–23. doi:10.4103/0019-5049.144643.
- [23] Versteeg HH, Heemskerk JWM, Levi M, Reitsma PH. New fundamentals in hemostasis. *Physiol Rev.* 2013;93(1):327–58. doi:10.1152/physrev.00016.2011.
- [24] Umerah C, Momodu II. Anticoagulation. *StatPearls.* 2021;1–11. PMID: 31424834.
- [25] Roberts H, Hoffman M, Monroe D. A Cell-Based Model of Thrombin Generation. *Semin Thromb Hemost.* 2006 Feb;32(S1):32–8. doi:10.1055/s-2006-939552.
- [26] Hoffman M, Monroe DM. A cell-based model of hemostasis. *Thromb Haemost.* 2001 Jun;85(6):958–65. PMID: 11434702.
- [27] Roche Diagnostics International Ltd. Multiplate® analyzer – A reliable tool for platelet function testing [Internet]. 2024. Verfügbar unter: <https://diagnostics.roche.com/global/en/products/instruments/multiplate-5-analyzer-ins-3691.html#productInfo> [Zugriff am 12.06.2025].
- [28] Glas M, Mauer D, Brün K, Volk T, Kreuer S. Point-of-Care-Testing – Einführung in die Methodik: Indikationen und Limitationen. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther.* 2013;48(5):324–34. doi:10.1055/s-0033-1347157.
- [29] Calatzis A, Spannagl M, Vorweg M. ROTEM Analyse – Zielgerichtete Behandlung akuter Hämostasestörungen,” pp. 1–28, 2014.
- [30] Schmölders RS, Hoffmann T, Hermsen D, Bernhard M, Boege F, Lau M, Hartung B. Evaluation of alcohol intoxication on primary and secondary haemostasis – results from comprehensive coagulation testing. *Int J Legal Med.* 2025;139(2):1–12. doi:10.1007/s00414-025-03449-7.
- [31] Heatley MK, Crane J. The Blood Alcohol Concentration at Post-Mortem in 175 Fatal Cases of Alcohol Intoxication. *Med Sci Law.* 1990 Apr;30(2):101–5. doi:10.1177/002580249003000203.
- [32] Yamamoto H, Tanegashima A, Hosoe H, Fukunaga T. Fatal acute alcohol intoxication in an ALDH2 heterozygote: a case report. *Forensic Sci Int.* 2000 Aug;112(2–3):201–7. doi:10.1016/s0379-0738(00)00246-2.

- [33] Kringsholm B. Akute tödliche Alkoholvergiftung. *Z Rechtsmed.* 1976 Dec;78(4):313–9.
doi:10.1007/BF01869234.
- [34] Cowan DH. Effect of alcoholism on hemostasis. *Semin Hematol.* 1980 Apr;17(2):137–47.
PMID: 6990498.
- [35] Wang IJ, Smith K, Lee J, et al. Effect of acute alcohol intoxication on mortality, coagulation, and fibrinolysis in trauma patients. *PLoS One.* 2021 Mar;16(3):e0248810.
doi:10.1371/journal.pone.0248810.
- [36] Boulanger L, Joshi AV, Tortella BJ, Menzin J, Caloyeras JP, Russell MW. Excess mortality, length of stay, and costs associated with serious hemorrhage among trauma patients: findings from the National Trauma Data Bank. *Am Surg.* 2007 Dec;73(12):1269–74. PMID: 18186388.