



**Technische Universität München**  
**Deutsches Herzzentrum München**  
**Klinik für Kinderkardiologie und angeborene Herzfehler**  
**(Direktor: Prof. Dr. Peter Ewert)**

Hämatologisch-rheologische Aberrationen bei zyanotischen Herzfehlern

Alexander Christoph Stöckl

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Medizin genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Prof. Dr. Ernst J. Rummeny

Prüfende/-r der Dissertation:

1. Prof. Dr. Dr. Harald Kaemmerer
2. Prof. Dr. Peter Ewert

Die Dissertation wurde am 23.12.2019 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 04.11.2020 angenommen.

**Meinem lieben Vater**

## Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung.....	5
1.1	Erwachsene mit zyanotischen Herzfehlern – eine Multisystemerkrankung .....	7
1.2	Rotationsthromboelastometrie nach dem ROTEM®-Verfahren .....	13
1.3	Vollblutimpedanzaggregometrie mit dem Multiplate®-Analyzer .....	14
1.4	Ziele und Fragestellung der Studie .....	15
2.	Material und Methoden .....	16
2.1	Studiendesign und beteiligte Zentren .....	16
2.2	Studienkollektiv .....	17
2.3	Studienkonzept.....	18
2.4	Labormethoden .....	19
3.	Ergebnisse .....	26
3.1	Patientenkollektiv.....	26
3.2	ROTEM®- und Multiplate®-Untersuchungen bei zyanotischen und azyanotischen EMAH.....	31
3.3	ROTEM®- und Multiplate®-Untersuchungen bei Eisenmenger-Syndrom .....	34
3.4	ROTEM®- und Multiplate®-Untersuchungen bei zyanotischen EMAH unter Vitamin- K-Antagonisten.....	37
3.5	Multiplate®-Untersuchungen bei zyanotischen EMAH unter Therapie mit Acetylsalicylsäure .....	38
3.6	ROTEM®- und Multiplate®-Untersuchungen in Korrelation zum Hämatokrit.....	39
3.7	ROTEM®- und Multiplate®-Untersuchungen in Korrelation zur Thrombozytenzahl .	42
3.8	Korrelation zwischen Thrombozytenzahl und Hämatokrit.....	46
4.	Diskussion.....	47
4.1	Allgemeines .....	47

4.2	ROTEM®- und Multiplate®-Untersuchungen bei zyanotischen und azyanotischen EMAH.....	49
4.3	ROTEM®- und Multiplate®-Untersuchungen beim Eisenmenger-Syndrom .....	52
4.4	ROTEM®- und Multiplate®-Untersuchungen bei zyanotischen EMAH unter Vitamin-K-Antagonisten.....	53
4.5	Multiplate®-Untersuchungen bei zyanotischen EMAH unter Therapie mit Acetylsalicylsäure .....	54
4.6	ROTEM®- und Multiplate®-Untersuchungen in Korrelation zum Hämatokrit.....	55
4.7	ROTEM®- und Multiplate®-Untersuchungen in Korrelation zur Thrombozytenzahl .	57
4.8	Korrelation von Hämatokrit und Thrombozytenzahl.....	60
4.9	Studienlimitationen.....	60
4.10	Schlussfolgerung.....	61
5.	Zusammenfassung.....	62
6.	Abbildungsverzeichnis.....	64
7.	Tabellenverzeichnis .....	65
8.	Literaturverzeichnis.....	66
	Danksagung .....	71

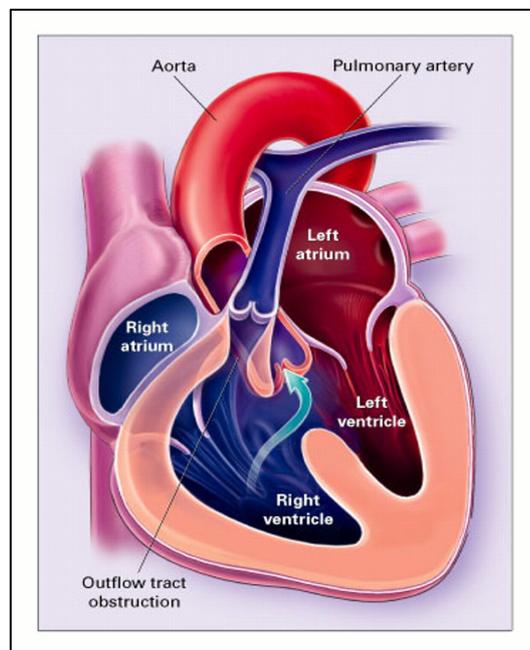
## Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Erklärung
ADP	Adenosindiphosphat
AHF	Angeborener Herzfehler
aPTT	Aktivierte partielle Thromboplastinzeit
AA	Arachidonsäure
ASD	Vorhofseptumdefekt (atrial septal defect)
AU	Aggregations-Units
AUC	Area under the curve in AU*min
CF	Plasmafibrinogenkonzentration
COX	Zyklooxygenase
CRP	C-reaktives Protein
CT	Clotting Time
EMAH	Erwachsene mit angeborenen Herzfehlern
INR	International Normalized Ratio
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
KHK	Koronare Herzerkrankung
MCF	Maximum Clot Firmness
MCH	Mittlerer korpuskulärer Hämoglobingehalt
MCV	Mittleres Erythrozytenvolumen
MPV	Mittleres Thrombozytenvolumen
NT-proBNP	N-terminales pro-Brain Natriuretic Peptide
NYHA	New York Heart Association
PAH	Pulmonal-arterielle Hypertonie
PS	Pulmonalstenose
PT	Thromboplastinzeit
SpO <sub>2</sub>	Sauerstoffsättigung in der Pulsoxymetrie
sTfR	Löslicher Transferrinrezeptor
TCPC	Totale cavopulmonale Anastomose
TGA	Transposition der großen Arterien
TRAP	Thrombinrezeptor-aktivierendes Peptid
TXA2	Thromboxan A2
VSD	Ventrikelseptumdefekt

## 1. Einleitung

Etwa jedes 100. Kind wird in Deutschland mit einem angeborenen Herzfehler (AHF) bzw. einer Anomalie der großen Gefäße geboren, der häufigsten isolierten angeborenen Organanomalie (Wren and O'Sullivan 2001). Etwa 55 % der AHF werden zu den einfachen Schweregraden gezählt und 45 % zu den mittelschweren und komplexen Formen (Schmaltz and Bauer 2013).

Nach klinischen Gesichtspunkten können die AHF in azyanotische und zyanotische Formen unterteilt werden. Zyanotische Herzfehler machen etwa 25% aller angeborenen Herzfehler aus (Abbildung 1).



**Abbildung 1:** Unkorrigierte Fallot'sche Tetralogie, als Beispiel des häufigsten zyanotischen angeborenen Herzfehlers (Brickner, Hillis et al. 2000). Gekennzeichnet ist diese Entität durch eine Deviation des outlet-Septums in den rechtsventrikulären Ausflusstrakt und hieraus resultierend einen Ventrikelseptumdefekt, eine Pulmonalstenose, einer das Septum überreitende Aorta sowie eine Hypertrophie des rechten Ventrikels. Desoxygeniertes Blut gelangt im Rahmen eines Rechts-links-Shunts in die Aorta und der pulmonale Blutfluss ist vermindert.

Der Begriff Zyanose stammt aus dem Griechischen und bedeutet so viel wie bläulicher Zustand von „κυάνεος“ blau und „σοος“ (krankhafter) Zustand. Bei den zyanotischen AHF

sind Haut und Schleimhäute infolge einer intrakardialen oder intrapulmonalen Mischung von venösem und arteriellem Blut in unterschiedlichem Ausmaß bläulich-purpurn verfärbt (Nürnberg 2006). Klinisch sichtbar wird eine Zyanose bei einem erhöhten Anteil von  $> 5\text{g/dl}$  desoxygeniertem Hämoglobin im kapillaren Blut (Roth 2005). Die arterielle Sauerstoffsättigung liegt meist um 85%.

Bei den zyanotischen AHF unterscheidet man zwischen AHF mit einem vermindertem Verhältnis zwischen pulmonalem und systemischem Blutfluss ( $Q_p/Q_s < 1$ ), solchen mit einem erhöhten pulmonalem Blutfluss ( $Q_p/Q_s > 1$ ) und solchen mit nahezu normalem pulmonalem Blutfluss (Tabelle 1) (Braunwald 2001, Michel-Behnke 2012).

Bei den AHF mit vermindertem pulmonalem Blutfluss besteht ein hoher Widerstand gegen den Lungenfluss, entweder aufgrund einer Pulmonalstenose oder einer schweren pulmonalvaskulären Erkrankung mit pulmonalarterieller Hypertonie (PAH). Bei den Formen mit erhöhtem Lungenfluss handelt es sich meist um komplexe Läsionen mit bidirektionalem Shunt und hyperkinetischer PAH, bei denen die Zyanose auf eine Mischung zwischen den beiden Kreisläufen oder auf eine Transpositions-Physiologie zurückzuführen ist.

Eine Sonderform des zyanotischen Herzfehlers ist das Eisenmenger-Syndrom, bei dem primär ein Links-Rechts-Shunt-Vitium vorlag, und bei dem es infolge einer druck- und/oder flussbedingten pulmonalvaskulären Erkrankung zu einem Rechts-Links-Shunt (Shuntumkehr) gekommen ist.

**Tabelle 1:** AHF mit vermindertem Verhältnis zwischen pulmonalem und systemischem Blutfluss ( $Q_p/Q_s < 1$ ), mit erhöhtem pulmonalem Blutfluss ( $Q_p/Q_s > 1$ ) und mit nahezu normalem pulmonalem Blutfluss (Vijayalakshmi 2013).

<p><b>1. Angeborene Herzfehler mit geringem pulmonalem Blutfluss, ohne pulmonale Hypertonie</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>i. Fallot-Tetralogie</li> <li>ii. Äquivalente der Fallot-Tetralogie (Pulmonalstenose mit Ventrikelseptumdefekt-ähnlicher Pathologie) <ul style="list-style-type: none"> <li>a) Rechter Doppelausstromventrikel mit VSD und Pulmonalstenose</li> <li>b) D-Transposition der großen Arterien mit VSD und Pulmonalstenose</li> <li>c) L-Transposition der großen Arterien mit VSD und Pulmonalstenose</li> <li>d) Trikuspidalatresie mit VSD und Pulmonalstenose</li> <li>e) univentrikuläres Herz mit VSD</li> <li>f) Truncus arteriosus mit kleinen Pulmonalarterien</li> </ul> </li> <li>iii. Pulmonalatresie mit intaktem interventrikulärem Septum</li> <li>iv. Pulmonalstenose mit Vorhofseptumdefekt</li> <li>v. Ebstein-Anomalie</li> </ul> <p><b>2. Angeborene Herzfehler mit geringem pulmonalem Blutfluss und pulmonaler Hypertonie</b> Eisenmenger-Syndrom</p> <p><b>3. Angeborene Herzfehler mit hohem pulmonalem Blutfluss</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>i. Durchmischung der beiden Blutkreisläufe <ul style="list-style-type: none"> <li>a) Auf Venenebene: Totale Lungenvenenfehlmündung</li> <li>b) Auf Vorhofebene: Atrium Commune, Trikuspidalatresie, Hypoplastisches Linksherzsyndrom</li> <li>c) Auf Ventrikelenebene: univentrikuläres Herz</li> <li>d) Auf Arterienebene: Truncus arteriosus</li> </ul> </li> <li>ii. Transpositionsphysiologie <ul style="list-style-type: none"> <li>a) D-Transposition der großen Gefäße,</li> <li>b) Taussig-Bing-Anomalie</li> </ul> </li> </ul> <p><b>4. Angeborene Herzfehler mit nahezu normalem pulmonalem Blutfluss</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>i. Pulmonale arteriovenöse Fisteln</li> <li>ii. Fehlmündung der Hohlvenen in den linken Vorhof</li> <li>iii. Sinus-coronarius-Defekt mit Mündung ins linke Atrium</li> </ul>
---

### 1.1 Erwachsene mit zyanotischen Herzfehlern – eine Multisystemerkrankung

Zyanotische AHF führen durch die niedrige Sauerstoffsättigung und konsekutive Erythrozytose zu einer Schädigung sämtlicher Organsysteme (Abbildung 2).

### Hämatologische Manifestation

Die chronische Hypoxämie und niedrige Gewebeoxygenierung bei Zyanose verursacht eine Erythropoetin-vermittelte Anpassungsreaktion, die sich im Blutbild als sekundäre „Erythrozytose“ manifestiert. Dabei ist lediglich die rote Reihe der Blutbildung vermehrt, während die weiße Reihe nicht vermehrt ist und die Thrombozytenzahl eher niedrig ist. Erythrozytenzahl und Hämatokrit sind dabei umso höher, je niedriger die Sauerstoffsättigung ist. Eine solche sekundäre Erythrozytose bedingt eine erhöhte Blutviskosität und eine erhöhte Scherspannung in den Gefäßen (Silversides, Granton et al. 2003, Broberg, Ujita et al. 2007, Perloff 2012).



**Abbildung 2:** Patient mit zentraler Zyanose: ausgeprägte Lippenzyanose durch desoxygeniertes Blut, Pseudokonjunktivitis als klinisches Bild der sekundären Erythrozytose. Hier zeigt sich zudem eine deutliche Halsvenenstauung bei Rechtsherzinsuffizienz.

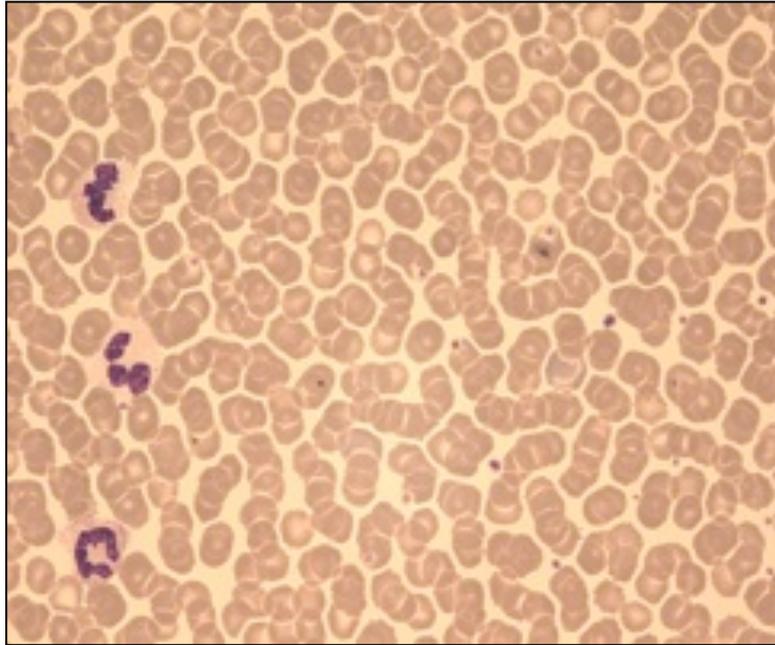
Im Rahmen der Erythrozytose besteht vielfach ein Eisenmangel, der durch den hohen Zellumsatz entsteht. Früher war er vielfach durch repetitive Phlebotomien verursacht, die oft zur Senkung des Hämatokrits durchgeführt wurden, ein Vorgehen, das heutzutage nur noch sehr selten und unter besonderen Indikationen gewählt wird. Begünstigt wird ein Eisenmangel bei zyanotischen Patienten zusätzlich durch chronischen Blutverlust bei

anhaltender Fehlernährung, gastrointestinalen, gynäkologischen oder sonstigen Blutungen.

Als Folge des Eisenmangels können die Erythrozyten hypochrom und mikrozytär werden und hierdurch in ihrer Sauerstofftransportkapazität und Verformbarkeit eingeschränkt sein, wodurch es zu Störungen der Mikrozirkulation kommen kann.

Nicht selten findet man allerdings bei zyanotischen AHF trotz eines Eisenmangels eher hyperchrome und makrozytäre Erythrozyten, was möglicherweise durch einen begleitenden Mangel an Folsäure und/oder Vitaminen der B-Gruppe bei hohem Zell-turn-over bedingt sein kann (Kaemmerer, Fratz et al. 2004).

Die sekundäre Erythrozytose kann in kompensierter oder dekomensierter Form vorliegen (Abbildung 3). Eine kompensierte Erythrozytose bedeutet, dass Hämoglobin bei ausreichender Eisenversorgung in Relation zum Ausmaß der Hypoxämie angestiegen ist. Stellt sich dieses Äquilibrium nicht ein, und sind die Hämoglobin- und Hämatokritwert über den physiologischen Bedarf hinaus angestiegen, spricht man von einer dekomensierten Erythrozytose. Diese Patienten entwickeln nicht selten ein Hyperviskositätssyndrom mit Kopfschmerzen, Sehstörungen und Schwindel, Hämoptysen, muskulo-skelettalen Beschwerden oder Fatigue. Nur diese Situation rechtfertigt eine Phlebotomie mit all ihren potentiellen Risiken und Nebenwirkungen (Rosove, Perloff et al. 1986, Perloff, Rosove et al. 1988, Oechslin 2015).



**Abbildung 3:** Peripherer Blutausstrich eines zyanotischen Patienten mit sekundärer Erythrocytose. Ausgeprägte Vermehrung nur einer Zellreihe, der Erythrozyten, im Gegensatz zur Polycythaemia vera, bei der alle drei Zellreihen vermehrt sind.

### **Störungen der Hämostase**

Neben den Veränderungen der roten Blutreihe kommt es bei zyanotischen Patienten typischerweise zu multifaktoriell bedingten Störungen der Hämostase durch Störungen der Gerinnungskaskade sowie der Thrombozytenfunktion und der Thrombozytenzahl.

Mehrere Blutgerinnungsparameter sind pathologisch verändert und an einer vermehrten Blutungsneigung beteiligt. Die Vitamin K-abhängigen Gerinnungsfaktoren (Faktor II, VII, IX, X) und Faktor V sind vermindert. Es besteht zudem eine erhöhte fibrinolytische Aktivität und ein Mangel an den größten von-Willebrand-Faktor-Multimeren (Wedemeyer, Edson et al. 1972, Henriksson, Varendh et al. 1979).

Typische Abnormitäten der Thrombozyten sind eine Thrombozytopenie und eine Thrombasthenie. Dabei korrelieren Thrombozytenzahl und Sauerstoffsättigung positiv, während zum Hämoglobin-/Hämatokrit-Wert eine inverse Beziehung besteht. Bei einer ineffektiven Thrombopoese liegt die Thrombozytenzahl meist im unteren Normbereich oder darunter (Lill, Perloff et al. 2006) und die Thrombozyten-Überlebenszeit ist herabgesetzt (Waldman, Czapek et al. 1975).

Durch die beschriebenen Gerinnungsanomalien wird bei zyanotischen Patienten die spontane Blutungsneigung erhöht und manifestiert sich typischerweise als Zahnfleischbluten, Epistaxis oder Hämoptysen (Henriksson, Varendh et al. 1979, Niwa, Perloff et al. 1999). Diese Blutungsneigung kommt besonders bei chirurgischen und insbesondere herzchirurgischen Eingriffen zum Tragen.

Neben dem erhöhten Blutungsrisiko besteht paradoxerweise aber auch ein erhöhtes Thromboserisiko. Dies betrifft einerseits die pulmonale Zirkulation, aber auch das cerebrale Gefäßsystem.

Das höchste Risiko einer Thrombose in der pulmonalen Strombahn besteht beim Eisenmangel-Syndrom und hier insbesondere bei weiblichen Patienten und bei einer niedrigeren Sauerstoffsättigung (Silversides et al. 2003). Hier finden sich gehäuft Thromben in den proximalen Pulmonalarterien sowie in den peripheren Lungengefäßen. Proximale pulmonalarterielle Thromben können intrapulmonal embolisieren und zu einem Lungeninfarkt, zu intrapulmonalen Blutungen oder zu einem hämorrhagischen Pleuraerguss führen.

Eine Sondersituation stellen systemarterielle Embolien dar, die als paradoxe Embolien bei dem obligatorischen Rechts-Links-Shunt aus dem venösen System die arterielle Zirkulation erreichen.

Zerebrovaskuläre Ereignissen treten bei zyanotischen Patienten deutlich häufiger als in der gesunden Bevölkerung auf (Hoffmann, Chockalingam et al. 2010). In der Genese spielen besonders eine Mikrozytose bei Eisenmangel, Gerinnungsstörungen, Vorhoffarrhythmien, eine arterielle Hypertonie sowie paradoxe Embolien eine Rolle (Hoffmann, Chockalingam et al. 2010). Neurologisch manifestieren sie sich als Kopfschmerzen, Synkope, Schlaganfälle/transiente ischämische Attacken oder Hirnblutungen. Hirnabszesse entstehen vor allem durch hämatogene Streuung von Bakterien aus infizierten Herden (Fischbein, Rosenthal et al. 1974).

### **Coronar-Zirkulation**

Erwachsenen mit zyanotischem AHF scheint die länger bestehende Zyanose und Erythrozytose einen gewissen Schutz vor einer koronaren Herzkrankheit (KHK) zu bieten, da es zyanosebedingt durch Freisetzung von Prostaglandinen, einen erhöhten

endothelialen Scherstress und eine Hochregulierung der Stickoxid-Synthase zu einer Gefäßerweiterung kommen kann.

Die Koronararterien selbst weisen in vielen Fällen, möglicherweise wegen der typischen Hypcholesterinämie, nur eine geringe Atherosklerose auf. Ebenfalls antiatherogen wirksam sind die Hypoxämie, die Hyperbilirubinämie und eine niedrige Thrombozytenzahl.

Histologisch findet sich ein Verlust von glatten Muskelzellen in der Media, ein vermehrter Kollagengehalt in der Media, eine Duplizierung der elastischen Lamina interna sowie eine fibromuskuläre Intimahyperplasie.

### **Störungen der Nierenfunktion**

Eine relevante Nierenfunktionsstörung bei zyanotischen AHF gilt als unabhängiger Prädiktor der Mortalität (Dimopoulos, Diller et al. 2008). An den Nieren von zyanotischen EMAH finden sich häufig morphologische und funktionelle Veränderungen, sowohl im Bereich der Nierengefäße als auch des juxtaglomerulären Apparates und des Mesangiums. Sie manifestieren sich als Proteinurie, Hyperurikämie und Erhöhung der Retentionswerte bis hin zum Nierenversagen. Die gestörte renale Harnsäure-Reabsorption und Harnsäure-Clearance führen zu erhöhten Harnsäurewerten, die weniger Ausdruck einer genuinen Gicht sind, als ein früher Parameter der gestörten Nierenfunktion.

### **Skelettäre Veränderungen**

Trommelschlegelakren, Uhrglasnägel, Wirbelsäulen-Skoliose und eine hypertrophe Osteoarthropathie sind häufige Manifestationsformen eines zyanotischen AHF (Abbildung 4). Insbesondere an der Ausbildung von Trommelschlegelakren und der hypertrophen Osteoarthropathie sind die Wachstumsfaktoren aus Thrombozyten entscheidend beteiligt (Silveira, Martinez-Lavin et al. 2000).



**Abbildung 4:** Patient mit zentraler Zyanose: Trommelschlegelakren und Uhrglasnägel

### **Metabolische Störungen**

Aufgrund der sekundären Erythrozytose steigt der Hämumsatz und in der Galle resultiert eine vermehrte Konzentration von unkonjugiertem Bilirubin. Während in der Normalbevölkerung Gallensteine zumeist als Cholesterin-Steine auftreten, finden sich bei zyanotischen Patienten meist Calciumbilirubin-Gallensteine (Shiina, Toyoda et al. 2011).

### **1.2 Rotationsthromboelastometrie nach dem ROTEM®-Verfahren**

Die Thromboelastometrie nach dem ROTEM®-Verfahren ist ein Analyseverfahren, das eine rasche und patientennahe Gerinnungsdiagnostik ermöglicht. Hierbei wird, wie bei der Thromboelastographie, die Gerinnselbildung mit standardisierten Reagenzien initiiert, um dann die viskoelastische Gerinnselstärke zu erfassen (Luddington 2005). Beide Verfahren detektieren Defekte bei der Gerinnselbildung (Mallett and Cox 1992), im Bereich der Thrombozyten und des Fibrinogens (Lang, Johanning et al. 2009, Solomon, Sorensen et al. 2012). Außerdem ist die ROTEM®-Analyse sensitiv für Veränderungen der Fibrinolyse beim Menschen (Spiel, Mayr et al. 2006).

Durch die viskoelastischen Verfahren ist bei erhöhtem Blutungsrisiko, z.B. in der Herz- und Gefäßchirurgie (Avidan, Alcock et al. 2004, Rahe-Meyer, Solomon et al. 2009, Kim, Shim et al. 2016, Scott, Niebler et al. 2018) oder bei Organtransplantationen (Coakley, Reddy et al. 2006) eine genaue Gerinnungsdiagnostik möglich. Durch die präzise Gerinnungsdiagnostik kann u.a. der Einsatz allogener Transfusionprodukte reduziert (Shore-Lesserson, Manspeizer et al. 1999) und eine Verbesserung des klinischen Outcomes bei komplexen, herzchirurgischen Eingriffen erzielt werden (Weber, Gorlinger et al. 2012).

Da die ROTEM®-Analyse im Gegensatz zu plasmatischen Gerinnungstests - wie der Thromboplastinzeit (INR-Wert), der aPTT und der Fibrinogen-Bestimmung nach Clauss - durch die zellulären Bestandteilen im Vollblut beeinflusst wird (Luddington 2005), können auch verminderte Thrombozytenzahlen und Defekte der Plättchenfunktion detektiert werden (Collyer, Gray et al. 2009, Lang, Johanning et al. 2009).

Die Erythrozytenkonzentration hat ebenfalls Einfluss auf die ROTEM®-Ergebnisse. Gerade bei Patienten mit zyanotischen Herzfehlern und sekundärer Erythrozytose, die sowohl eine erhöhte Blutungs- als auch Thromboseneigung aufweisen, ist dies zur Überwachung des Gerinnungsstatus, z.B. bei operativen Eingriffen relevant (Westbury, Lee et al. 2013).

### **1.3 Vollblutimpedanzaggregometrie mit dem Multiplate®-Analyser**

Thrombozyten sind ein zentraler Bestandteil des physiologischen Gerinnungsprozesse und der Entstehung von Thromben. Dabei sind Adhäsion, Aggregation, und Freisetzung von Thrombozyten eine Antwort auf (patho)physiologische Stimuli unter erhöhten Scherkräften, Vasokonstriktion und Thrombusabbau (Panzer and Jilma 2011).

Die Multiplate®-Analyse ist ein valides Instrument für die Untersuchung von Thrombozytenaggregationshemmern wie Acetylsalicylsäure oder Clopidogrel (von Pape, Dzijan-Horn et al. 2007, Sibbing, Braun et al. 2009). So kann z.B. die Gefahr von Stentthrombosen nach Coronarangioplastie durch verminderte Wirkung von Aggregationshemmer mittels Mehrfach-Elektroden-Aggregometrie abgeschätzt werden (Siller-Matula, Christ et al. 2010).

Die Multiplate®-Analyse dient dem Monitoring der Thrombozytenaggregation im Rahmen des Hämostasemanagements da es auch heute noch bei etwa 20% der herzchirurgischen Eingriffe zu perioperativen Gerinnungsstörungen kommt (Hartmann, Sucker et al. 2006). Dies gilt auch für Patienten mit zyanotischen Herzfehlern, die sich einem palliativen oder korrigierenden operativen Eingriff unterziehen müssen.

Während klassische Methoden zur Evaluierung der Thrombozytenfunktion (z.B. Lichttransmissionsaggregometrie) zeitaufwendig sind und größere Probenvolumina benötigen, erlaubt die Multiplate®-Analyse eine patientennahe Sofortdiagnose. Bereits nach fünf bis zehn Minuten liefert sie mit standardisierten Testansätzen Ergebnisse aus einer geringen Vollblutmenge, ohne dass eine Zentrifugation der Proben nötig ist (Sibbing, Braun et al. 2009, Romlin, Soderlund et al. 2014, Wurtz, Hvas et al. 2014).

Mit dem Multiplate®-Verfahren kann zudem der perioperative Bedarf an Thrombozytenkonzentraten vor dem Eingriff abgeschätzt werden (Rahe-Meyer, Winterhalter et al. 2009, Ranucci, Baryshnikova et al. 2017). Klassische Gerinnungstest können demgegenüber ein postoperatives Blutungsrisiko nicht vorhersagen (Petricevic, Biocina et al. 2013).

Die Mehrfach-Elektroden-Aggregometrie kann das postoperative Blutungsrisiko in der Herzchirurgie auch unter Einsatz von Thrombozytenaggregationshemmern prognostizieren (Ranucci, Baryshnikova et al. 2011). Zudem konnte mit der Multiplate®-Analyse bei Thrombozytenzahlen unter  $150 \times 10^9/l$  eine verminderte Thrombozytenaggregationsfähigkeit detektiert werden, ein Aspekt, der auch bei zyanotischen EMAH zu berücksichtigen ist (Stissing, Dridi et al. 2011).

#### **1.4 Ziele und Fragestellung der Studie**

Da bei zyanotischen EMAH im Spontanverlauf oder bei Entscheidungen hinsichtlich einer Thrombozytenaggregationshemmung oder einer Antikoagulation mit Störungen der Hämostase zu rechnen ist, ist in diesem Patientenkollektiv eine differenzierte Betrachtung der Thrombozytenfunktion erforderlich.

Im Rahmen der vorliegenden Studie sollten folgende Fragestellungen geklärt werden:

- Erfassung hämatologisch-rheologischer Aberrationen und Thrombozytenfunktionsstörungen bei zyanotischen EMAH durch den Einsatz moderner Untersuchungsverfahren in der Gerinnungsdiagnostik:
  - Vollblutimpedanzaggregometrie mit dem Multiplate®-Analyser
  - viskoelastische Testverfahren der Thrombelastometrie mit dem ROTEM®-System.
- Validierung dieser Labor-Methoden bei zyanotischen Patienten mit Erythrozytose und erhöhten Hämatokritwerten
- Evaluation der Korrelation zwischen Thrombozytenzahl, Hämatokrit und Thrombozytenfunktion
- Untersuchung des Einflusses von Vitamin-K-Antagonisten auf die Untersuchungsergebnisse
- Untersuchung des Einflusses von Acetylsalicylsäure auf die Untersuchungsergebnisse
- Untersuchung des Einflusses des Hämatokrit-Wertes auf die Untersuchungsergebnisse
- Untersuchung des Einflusses der Thrombozytenzahl auf die Untersuchungsergebnisse.

Als Kontrollkollektiv dienten erwachsene Patienten mit azyanotischen Herzfehlern.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Studiendesign und beteiligte Zentren

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine Fall-Kontroll-Studie. Die Patienten, die Kontrollpersonen und ein Großteil der Daten wurden prospektiv erfasst. Ein Teil der klinischen Daten zu den vorliegenden angeborenen Herzfehlern (z.B. Routinelabor, Art und Schweregrad des Herzfehlers) wurde retrospektiv aus den Patientenakten ergänzt.

An der Studie waren folgende Kliniken, Institutionen und Mitarbeiter maßgeblich beteiligt:

- Klinik für angeborene Herzfehler und Kinderkardiologie, Deutsches Herzzentrum München (Dir.: Prof Dr. Peter Ewert), Klinik an der Technischen Universität München:

Ambulanzärzte der Klinik, Prof. Dr. Dr. Harald Kaemmerer, Frau Dr. Siegrun Mebus, Frau Dr. Claudia Pujol, Herr Florian Lesmeister und weitere Ambulanzärzte der Klinik.

- Institut für Laboratoriumsmedizin (Dir.: Prof. Dr. Stefan Holdenrieder), Deutsches Herzzentrum München, Klinik an der Technischen Universität München: Dr. Siegmund Braun, ehemaliger kommissarischer Institutsdirektor, sowie Herr Dr. Franz Röschenthaler
- Institut für Medizinische Informatik, Statistik und Epidemiologie, Lehrstuhl für Medizinische Informatik (Dir.: Prof. Dr. Kurt Ulm), Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München

## **2.2 Studienkollektiv**

### **Patienten**

Einschlusskriterien für die Patienten waren das Vorliegen eines zyanotischen, angeborenen Herzfehlers, ein Alter  $\geq 18$  Jahre und eine vorliegende Einwilligung zur Studienteilnahme. Ausschlusskriterien waren eine Verweigerung der Zustimmung und/oder eine fehlende kognitive Kompetenz der Studienteilnehmer. Einschlusszeitraum war zwischen 01.05.2012 und 31.12.2012. Eingeschlossen wurden insgesamt 76 Patienten.

### **Kontrollgruppe**

Die Kontrollgruppe setzte sich zusammen aus 48 Patienten mit einem azyanotischen, angeborenen Herzfehler im Alter  $\geq 18$  Jahren. Ausschlusskriterien waren auch hier die Verweigerung der Zustimmung sowie eine fehlende kognitive Kompetenz der Studienteilnehmer. Einschlusszeitraum war zwischen 01.05.2012 und 31.12.2012.

## **Einverständnis und Datenschutz**

Die Patienten und Kontrollpersonen wurden durch ein Gespräch und die Aushändigung eines Informationsbogens ausführlich über die Studie und die folgenden Untersuchungen aufgeklärt. Ebenfalls wurden die Probanden informiert, dass die Teilnahme an der Studie keinen Einfluss auf die medizinische Behandlung hat.

Die Einwilligung der Patienten und Kontrollpersonen erfolgte schriftlich.

Sämtliche statistischen Auswertungen wurden anonymisiert. Die Analysen erfolgten nicht personenbezogen.

Die Studie wurde durch die zuständige Ethikkommission geprüft und am 04.04.2012 mit der Projektnummer 5312/12 positiv bewertet und in Übereinstimmung mit der Deklaration von Helsinki durchgeführt.

Bei der Erfassung und Verarbeitung der Daten wurden die jeweiligen Bundes- und Landesschutzgesetze beachtet.

## **2.3 Studienkonzept**

### **Datenerfassung**

Die Patienten mit zyanotischen Herzfehlern wurden im Rahmen ihrer, unabhängig von der Studie laufenden Kontroll- oder Erstuntersuchungstermine in der Ambulanz für Erwachsene mit Angeborenen Herzfehler am DHM rekrutiert. Die klinischen Daten der Patienten wurden retrospektiv anhand von Arztbriefen und weiteren Unterlagen aus den Patientenakten erfasst: Alter, Geschlecht, transkutane Sauerstoffsättigung, Vormedikation mit Thrombozytenaggregationshemmern oder Vitamin-K-Antagonisten, Vorliegen einer Eisenmangel-Reaktion, interventioneller oder operativer Eingriff, Routinelabordaten und vorhandene Daten zur Gerinnung. Zusätzlich zur normalen Untersuchung wurde den Patienten im Rahmen der Studie Blut abgenommen, das anschließend im Labor des DHM analysiert wurde.

Als Kontrollkollektiv wurden Patienten mit azyanotischen angeborenen Herzfehlern eingeschlossen, die im Rahmen von Routine-Untersuchungen in der Ambulanz für

Erwachsene mit angeborenen Herzfehlern vorstellig wurden. Bei ihnen wurde im Rahmen der Untersuchung ebenfalls Blut abgenommen.

## **2.4 Labormethoden**

Bei allen eingeschlossenen Patienten erfolgte eine Blutentnahme aus der Armvene mit jeweils einer Hirudin-, PFA-, Serum- und Heparin-Monovette und jeweils zwei Citrat- und EDTA-Monovetten. Insgesamt wurde ca. 25 ml Blut entnommen, das anschließend im Labor des DHM weiterverarbeitet und analysiert wurde.

### **Standardlabor**

Als hämatologische Standardparameter wurden Hämoglobin, Hämatokrit, mittleres korpuskuläres Volumen (MCV), mittlerer korpuskulärer Hämoglobingehalt (MCH), Thrombozyten, mittleres Thrombozytenvolumen (MPV), Leukozyten und Retikulozyten bestimmt. Außerdem wurden die International Normalized Ratio (INR), Serum-Gesamteiweiß, Kreatinin, die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) und Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT), Harnsäure, Ferritin, der lösliche Transferrin-Rezeptor (sTfR), das C-reaktive Protein (CRP) und das N-terminale pro-Brain-Natriuretic Peptide (NT-pro-BNP) bestimmt.

Die Thrombelastometrie im Citratblut wurde mit dem ROTEM® Vollblut Hämostase System (Pentapharm GmbH, München) durchgeführt. Die Impedanzaggregometrie zur Untersuchung der Thrombozytenfunktion im Vollblut erfolgte mit dem Multiplate®-Analyzer der Firma Roche Diagnostics, Mannheim.

Für die präzise Messung der Gerinnungsfaktoren wurde bei Patienten mit Zyanose und sekundärer Erythrozytose die Menge an Citrat-Antikoagulans in den Entnahmeröhrchen dem Hämatokrit nach folgender Formel angepasst:

$$\text{Volumen der Citratlösung} = \text{Gesamtvolumen der Blutprobe} (100 - Hk) / (640 - Hk)$$

Der Hämatokritwert wurde zur Vermeidung von Plasmaeinschlüssen bei der Zentrifugation auf Basis automatischer elektronischer Partikelanzählung bestimmt.

## Analyseverfahren bzw. Geräte

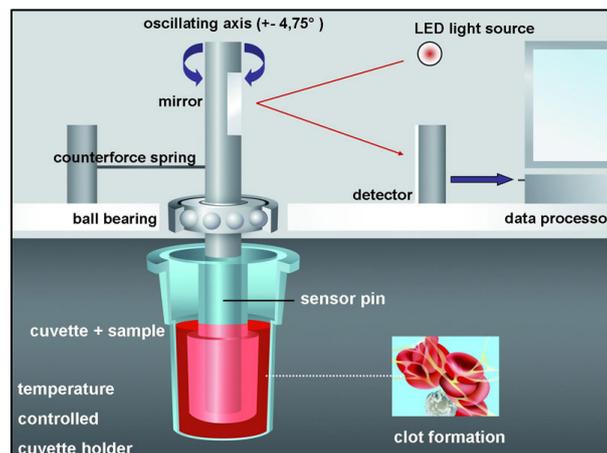
### **SYSMEX XE 2100 Analyzer**

Die in-vitro-Diagnostik der hämatologischen Parameter im Vollblut wurde mit dem vollautomatischen Analysegerät Sysmex XE 2100 Analyzer (Kobe, Japan) durchgeführt.

Die Technik beruht auf der fokussierten Durchflusszytometrie. Dabei werden die zu analysierenden Zellen beim Passieren der Durchflusszelle mit monochromatischem Licht eines Halbleiters bestrahlt, wobei je nach Streuwinkel des erfassten Lichtes auf die unterschiedlichen Zelleigenschaften geschlossen werden kann (Nakul-Aquaronne, Sudaka-Sammarcelli et al. 2003).

### **Rotationsthrombelastometrie**

Um den dynamischen Prozess des gesamten Gerinnungsvorganges abzubilden, wurde das ROTEM® Vollblut Hämostase System (Pentapharm GmbH, München) verwendet (Abbildung 5), eine modifizierte Weiterentwicklung der Thrombelastographie (Hartert 1948).



**Abbildung 5:** ROTEM-Verfahren nach

<https://www.rotem.de/en/methodology/thromboelastometry/> abgerufen am 30.09.2018. In der mit Blut gefüllten Kuvette rotiert ein Messstempel in der Ebene. Durch die einsetzende Gerinnung wird die Auslenkung des Stempels reduziert. Der Vorgang wird über einen photosensiblen Sensor an die ROTEM®-Software übertragen und graphisch dargestellt.

Beim ROTEM<sup>®</sup>-Verfahren wird eine Vollblutprobe zur Analyse durch automatisches Pipettieren in eine auf 37°C vorgewärmte zylindrische Küvette gegeben.

Im Gegensatz zur klassischen Thrombelastographie nach Hartert, welche bereits für geringe Erschütterungen anfällig ist, rotiert anstelle der Küvette der Stempel. Dieser wird durch ein Kugellager auf einer Achse stabil geführt, wobei er mit einer Feder um einen Winkel von 4.75° in der Ebene nach rechts und links rotiert. Am oberen Ende der Achse ist ein Spiegel installiert, über welchen ein photosensibler Sensor die Auslenkung detektiert, die der Strahl einer Leuchtdiode erzeugt. Je fester das sich über die Zeit bildende Blutgerinnsel in der Küvette wird, desto stärker wird die Auslenkung des Stempels reduziert. Es besteht somit eine indirekte Proportionalität zwischen Gerinnselfestigkeit und Drehung des Stempels. Die Bewegung des Stempels wird nun in Echtzeit in eine Amplitude umgerechnet und durch den Computer als ROTEM<sup>®</sup>-Kurve graphisch dargestellt.

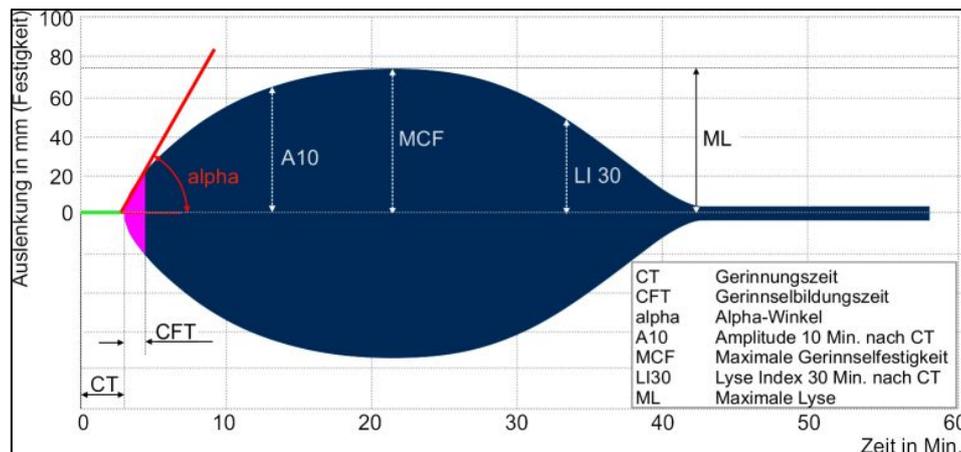
### **ROTEM-Tests**

Beim ROTEM-Verfahren wird die Analyse mit Zitratblut und spezifischen Reagenzien durchgeführt. Zu Beginn der Messung werden 20 µl eines STARTEM-Reagenz, welches die Rekalzifikation des Zitratblutes ermöglicht, mit 20 µl EXTEM- bzw. FIBTEM-Reagenz in eine vortemperierte Küvette des ROTEM<sup>®</sup>-Gerätes halbautomatisch pipettiert. In einem zweiten Schritt wird 300 µl Zitratblut des Probanden hinzugefügt. Anschließend werden Probe und Reagenz gleichmäßig durchmischt und daraufhin im ROTEM<sup>®</sup>-Messkanal zur Analyse befestigt.

- *EXTEM*: Als Aktivator der Gerinnung ist im EXTEM-Reagenz eine geringe Menge Tissue Factor (Gewebsthromboplastin) hinzugefügt. Innerhalb von 70 Sekunden beginnt daraufhin die Gerinnselbildung und innerhalb von 10 Minuten kann bereits die Gerinnselbildung beurteilt werden. Erfasst werden dabei die Komponenten des extrinsischen Gerinnungssystems (F VII, X, V, II, I, Thrombozyten, Fibrinolyse).
- *FIBTEM*: Hier wird zur Aktivierung der Gerinnung ebenfalls Tissue Factor appliziert. Im FIBTEM wird die Thrombozytenfunktion jedoch durch die Zugabe von Cytochalasin D inhibiert (Lang, Toller et al. 2004). Somit ist das sich bildende Gerinnsel nur von der

Fibrinbildung und der Fibrinpolymerisation beeinflusst (Kettner, Panzer et al. 1999, Nielsen, Geary et al. 2000).

### Parameter der ROTEM-Analyse



**Abbildung 6:** Parameter der ROTEM®-Analyse: Die Abbildung zeigt den physiologischen Befund einer ROTEM®-Analyse. Gerinnungszeit (CT) in grün von Beginn der Messung bis zum Einsetzen der Gerinnung, Gerinnselfestigkeitszeit (CFT) in magenta, maximale Gerinnselfestigkeit (MCF), Alpha-Winkel in rot als Kinetik der Gerinnselfestigung. Maximale Ausprägung der Gerinnselflyse (ML) in % von MCF. ROTEM®-Analyse (<https://www.rotem.de/methodik/rotem-delta-und-sigma-analyse/>)

- *Clotting Time (CT)*: Gerinnungszeit in Sekunden, von Beginn der Messung bis zum Einsetzen der Gerinnung. Die CT wird durch die Thrombinbildung und die Aktivierung der Gerinnung mit der Polymerisation des Blutgerinnsels beeinflusst.
- *Clot formation time (CFT)*: Gerinnselfestigkeitszeit in Sekunden. Zeit ab Beginn der Gerinnung bis eine Gerinnselfestigkeit von 20 mm beobachtet werden kann. Hierbei kommt es zur Fibrinpolymerisation und zur Verfestigung des Gerinnsels durch Thrombozyten und Faktor XIII. Sie ist Ausdruck der initialen Gerinnungsgeschwindigkeit.
- *Maximum Clot Firmness (MCF)*: Die maximale mechanische Ausprägung des Gerinnsels in Millimetern entspricht der Amplitude des Thrombelastogramms. Sie gilt

als Maß für die Gerinnselfestigkeit, wobei sie zu Beginn des Gerinnungsprozesses 0 mm beträgt und 100 mm theoretisch für unendliche Festigkeit stehen. Das Gerinnsel wird durch die Aktivität der Thrombozyten, durch das polymerisierte Fibrin und durch den Faktor XIII zunehmend verfestigt.

- *CFR ODER Alpha-Winkel*: Der Alpha-Winkel stellt graphisch die Kinetik einer Gerinnselbildung dar. Er ist definiert als Winkel zwischen der Mittellinie und einer Tangente an die Messkurve durch den 20 mm Amplitudenpunkt.

### **Impedanzaggregometrie zur Untersuchung der Thrombozytenfunktion**

Cardinal und Flower entwickelten ein Verfahren zur Untersuchung der Thrombozytenfunktion, welches auf dem Prinzip der Widerstandmessung beruht (Cardinal and Flower 1980). In eine, von einem Magnetrührer gerührten Vollblutprobe werden zwei Platinelektroden eingeführt. Die Vollblutprobe wurde bei Abnahme durch Hirudin antikoaguliert. Sodann ummanteln die dort befindlichen Thrombozyten dieses Fremdmaterial. Weitere Interaktionen zwischen den Thrombozyten werden erst durch Hinzugabe von Reagenzien ermöglicht, die aggregationsfördernd wirken. Ansonsten ist keine wesentliche Veränderung der Leitfähigkeit an den Messelektroden zu beobachten (Calatzis 2007).

Die Impedanzaggregometrie erfasst zum ersten die Thrombozyteninteraktion an Fremdoberflächen und nachfolgend die Interaktion der Thrombozyten untereinander.

Die Multiplate<sup>®</sup>-Analyse stellt eine Weiterentwicklung der Vollblutaggregation dar (Toth, Calatzis et al. 2006). Bei diesem Gerät tauchen zwei Paar silberummantelte Kupferelektroden in die Blutprobe ein, die unabhängig voneinander die Impedanz detektieren.

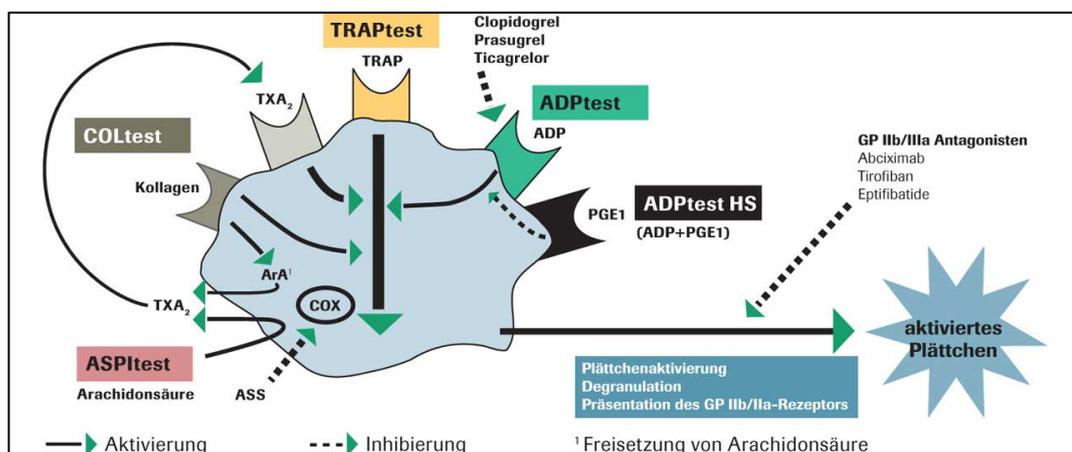
Im Analysegerät sind fünf Messkanäle integriert, sodass parallel gemessen werden kann. Im Abnahmeröhrchen wird das Vollblut mit Hirudin antikoaguliert. Nach Aggregation der Thrombozyten an den Sensoren kommt es zur Widerstandserhöhung. Dies wird bei der Multiplate<sup>®</sup>-Analyse als „Aggregations-Units (AU)“ dargestellt. Die hierzu benötigte Zeit der Aggregationsbildung wird als „Velocity“ in AU/min bezeichnet.

Ein wichtiger Parameter für die Messungen ist die Fläche unter der Aggregationskurve „AUC“ (Area under the Curve). Sie ist von der maximal zu erreichenden Aggregation und deren Geschwindigkeit abhängig und wird in der Einheit AU\*min angegeben (Marschner, Kristensen et al. 2012).

### Multiplate-Tests

Zu Beginn werden 300 µl einer 0,9% Natriumchloridlösung mit 300 µl Hirudinblut des Probanden in eine Messzelle pipettiert. Daraufhin wird die Probe drei Minuten unter 37° Celsius konstant durchmischt. In einem nächsten Schritt werden 20 µl des zu untersuchenden Reagenz, d.h. ADPtest, ASPItest oder TRAPtest hinzugegeben. Da die Pipette direkt mit der Multiplate®-Software verbunden ist, beginnt automatisch die Impedanzanalyse für sechs Minuten.

Die Abbildung 7 zeigt die unterschiedlichen Aktivierungswege der einzelnen Aktivatoren an einem Thrombozyten.



**Abbildung 7:** Aktivierungswege an Thrombozyten nach <https://www.roche.de/diagnostics/systeme/gerinnungsdiagnostik/multiplate-analyzer.html#Merkmale> abgerufen am 30.09.2018. Quantitative in-vitro Bestimmung der Thrombozytenfunktion nach Stimulation des thrombozytären ADP-Rezeptors im ADPtest. Analyse der Arachidonsäure-getriggerten (Substrat der COX) Thrombozytenfunktion im ASPItest. Nachweis der direkt über TRAP aktivierten Thrombozyten im TRAPtest.

- *ADPtest*: Auf der Oberfläche der Plättchen sitzen P2X1-P2Y1- und die P2Y12-ADP-Rezeptoren. Über diese Rezeptoren aktiviert Adenosindiphosphat (ADP) die Thrombozyten (Gachet 2001). Bindet ADP an P2Y12-Rezeptoren, kommt es zu einer Reduktion von cyclischem Adenosinmonophosphat in den Thrombozyten. In Folge dessen wird  $Ca^{2+}$  endogen freigesetzt, wodurch die intrazelluläre  $Ca^{2+}$ -Konzentration steigt. Dadurch werden die Thrombozyten aktiviert und aggregieren. Clopidogrel blockiert den P2Y12-ADP-Rezeptor und verhindert somit die Bindung des Agonisten ADP.
- *ASPItest (Arachidonsäuretest)*: Durch die Cyclooxygenase getriggert wird aus Arachidonsäure (AA) TXA2 synthetisiert, was dann zur Aktivierung von Plättchen führt. Die AA selbst kann diese Aktivierung nicht auslösen. Somit kann mit dem ASPItest die Funktionstüchtigkeit Cyclooxygenase überprüft werden bzw. die Wirksamkeit von COX-Inhibitoren wie Acetylsalicylsäure (Calatzis, Spannagl et al. 2006).
- *TRAPtest (Thrombin Receptor Activating Peptide Test)*: Das Peptid TRAP-6 imitiert die Bindung von Thrombin am Thrombin-Rezeptor. Dies führt zu einer starken Thrombozytenaktivierung auch ohne eine Verstärkung durch die COX. Hierdurch kann überprüft werden, ob die Plättchen prinzipiell stimulierbar sind. Die Thrombinwirkung kann weder durch Acetylsalicylsäure noch durch Clopidogrel blockiert werden. Lediglich durch Einnahme eines GPIIb/IIIa-Antagonisten wird die Aggregation inhibiert. Somit kann bei Patienten unter Medikation mit Acetylsalicylsäure und Clopidogrel die Wirkung von GPIIb/IIIa-Antagonisten untersucht werden (Calatzis, Spannagl et al. 2006).

### **Statistische Auswertung**

Die statistische Bearbeitung und Auswertung erfolgte in Absprache mit dem Institut für Medizinische Informatik, Statistik und Epidemiologie der Technischen Universität München.

Die Daten wurden bei diskreten Variablen mittels Häufigkeiten und Prozent, die stetigen Variablen mit Median sowie erstem und drittem Quantil angegeben. Um Gruppen stetiger

Variablen zu vergleichen, wurden Mann Whitney U Tests berechnet. Bei diskreten Vergleichen wurde der Exakte Test nach Fischer verwendet, bei Zusammenhängen zwischen zwei stetigen Merkmalen der Spearmans Korrelationskoeffizient. Die Daten wurden mittels Balkendiagrammen, Boxplots und Streudiagrammen repräsentiert. Als Signifikanzniveau wurde ein  $\alpha$ -Wert von 5% gewählt. Alle Auswertungen wurden mit dem Programm R (Version 3.5.1, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) erstellt.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Patientenkollektiv

In der Untersuchungsgruppe der Patienten mit angeborenen zyanotischen Herzfehlern waren 39 von 76 (51.3%) Probanden Frauen, im Kontrollkollektiv 25 von 48 (52.1%).

Das mediane Alter der zyanotischen Patienten betrug 34.0 Jahre (min. 26.0; max. 40.0 Jahre), das der azyanotischen Patienten 36.5 Jahre (min. 22.8; max. 45.0 Jahre) ( $p = 0.906$ ).

Klinische Untersuchungsparameter sind in Tab 2 aufgeführt. (Tabelle 2):

**Tabelle 2:** Klinische Untersuchungsparameter der in die Studie eingeschlossenen Patienten. Einteilung in klinische Funktionsklassen nach Perloff, Auftreten einer Eisenmenger-Reaktion, invasive, kardiologische Interventionen, herzchirurgische Eingriffe, Geschlecht und Einnahme von Thrombozytenaggregationshemmern bzw. Vitamin-K-Antagonisten.

		Kontrolle: azyanotische angeborene Herzfehler		Fallgruppe: zyanotische angeborene Herzfehler		P-Wert exakter Test nach Fisher
		n	%	n	%	
Funktionsklasse	Perloff 1,2	46	95.8%	46	60.5%	< 0.001
	Perloff 3,4	2	4.2%	30	39.5%	
Eisenmenger-Syndrom	nein	48	100.0%	37	48.7%	< 0.001
	ja	0	0.0%	39	51.3%	
Intervention vorausgegangen	nein	47	97.9%	21	27.6%	< 0.001
	ja	1	2.1%	55	72.4%	
Vor-Operation	nein	41	85.4%	61	80.3%	0.630
	ja	7	14.6%	15	19.7%	
Geschlecht	W	24	50.0%	32	42.1%	0.460
	M	24	50.0%	44	57.9%	
Aspirin	nein	44	91.7%	72	94.7%	0.710
	ja	4	8.3%	4	5.3%	
Coumadin	nein	40	83.3%	56	73.7%	0.272
	ja	8	16.7%	20	26.3%	

Des Weiteren wurden die Herzfehler aller Studienteilnehmer einer von sieben Hauptgruppen (I – VII) zugeordnet (Tabelle 3).

**Tabelle 3:** Klassifikation der Herzfehler aller Studienteilnehmer. Unterteilung in komplexe Herzfehler, Anomalien des linken Herzens bzw. der Aortenklappe oder Aorta, Anomalien des rechten Herzens bzw. Anomalien der Pulmonalklappe, post- und prätrikuspidale Shunts, angeborene Herzrhythmusstörungen sowie andere angeborene Herzfehler.

Klassifikation der Herzfehler	Diagnose	Azyanotische AHF	Zyanotische AHF
I. Komplexe Herzfehler	Trikuspidalatresie	0	7
	Mitralatresie	0	3
	Double Inlet Ventrikel	0	11
	Komplette Transposition	3	5
	Kongenital-korrigierte Transposition	2	2
	Double Outlet Right Ventricle mit TGA	1	2
	Truncus arteriosus communis	3	0
	Ebstein'sche-Anomalie	5	1
II. Anomalien des linken Herzens bzw. der Aortenklappe oder Aorta	Aortenisthmusstenose	4	0
	Aortenklappenstenose	1	0
III. Anomalien des rechten Herzens bzw. Anomalien der Pulmonalklappe	Pulmonalklappenstenose	1	0
	Fallot'sche Tetralogie	6	2
	Double Outlet Right Ventricle - Fallot-Typ	0	1
	Pulmonalatresie mit Ventrikelseptumdefekt	1	14
IV. Posttrikuspidale Shunts	Kompletter AV-Septumdefekt	0	13
	Ventrikelseptumdefekt	2	13
	Persistierender Ductus arteriosus Botalli	1	0
V. Prätrikuspidale Shunts	Persistierendes Foramen ovale	4	0
	Vorhofseptumdefekt	9	1
	Totale Lungenvenenfehlmündung	0	1
VI. Angeborene Herzrhythmusstörungen	Angeborene Herzrhythmusstörungen (inclus. Wolf-Parkinson-White-Syndrom)	4	0
VII. Andere angeborene Herzfehler	Trikuspidalinsuffizienz, angeboren	1	0

Von den 76 zyanotischen Patienten hatten 55 Personen (72.4%) eine pulmonalvaskuläre Erkrankung mit pulmonaler Hypertonie. Hiervon hatten 39 Patienten (51.3%) ein Eisenmenger-Syndrom. Bei den azyanotischen Probanden hatte nur einer von 48 Teilnehmern eine pulmonale Hypertonie (2.1%), keiner ein Eisenmenger-Syndrom.

Bei den Patienten mit Zyanose lag die transkutan gemessene, periphere Sauerstoffsättigung im Median bei 81.5% (min. 77.8%; max. 85.0%). Bei den azyanotischen Patienten wurde im Median eine Sauerstoffsättigung von 98.0% (min. 97.0%; max. 99.0%) gemessen ( $p < 0.001$ ).

Die klinische Einteilung in Funktionsklassen nach Perloff ergab, dass von den zyanotischen EMAH 46 von 76 Patienten (60.5%) den Funktionsklassen 1 und 2 zugeordnet wurden, bei den azyanotischen Probanden 46 von 48 Personen (95.8%). Dreißig von 76 Zyanotikern (39.5%) hatten ausgeprägte Symptome, entsprechend den Klassen Perloff 3 und 4, während eine schwerwiegendere Symptomatik nur bei zwei azyanotischen Patienten (4.2%) zu beobachten war ( $p < 0.001$ ).

Als Dauermedikation hatten 5.3% der zyanotischen und 8.3% der azyanotischen Patienten einen Thrombozytenaggregationshemmer (Acetylsalicylsäure) ( $p = 0.71$ ).

Unter Vitamin-K-Antagonisten standen 26.3% der zyanotischen und 16.7% der azyanotischen Patienten ( $p = 0.302$ ).

Die Ergebnisse der **hämatologischen Standarduntersuchungen** wie Hämoglobin, Hämatokrit, MCV, MCH und Thrombozyten sind in Tabelle 4 zusammengestellt.

Signifikante Unterschiede ergaben sich bezüglich Hämatokrit, Hämoglobinkonzentration, mittlerer Erythrozytenzahl, MCV und MCH, Retikulozytenzahl, Thrombozytenzahl, INR, Harnsäure, löslicher Transferrinrezeptor, CRP und NT-proBNP. Keine signifikanten Unterschiede lagen vor bei Leukozytenzahl, Kreatinin, GOT, GPT, Gesamtproteingehalt, Ferritin und MPV.

**Tabelle 4:** Ergebnisse der erweiterten Laborparameter (in Klammern: Minimum bzw. Maximum der ermittelten Werte): Neben dem Hämogramm wurden INR, Nierenretentionsparameter, Transaminasen, akute-Phase-Proteine und Herzinsuffizienzmarker bestimmt.

	Einheiten	Referenzbereich	Azyanotische AHF	Zyanotische AHF	p-Wert
<b>Anzahl</b>			<b>n = 48</b>	<b>n = 76</b>	
Hämoglobin	g/dl	M 13.0-16.5 W 11.0-14.0	14.2 [13.4;14.6]	20.7 [19.1;22.8]	< 0.001
Erythrozyten	10 <sup>12</sup> /l	M 4.1-5.4 W 3.7-5.0	4.67 [4.45;4.95]	6.57 [6.07;7.21]	< 0.001
Hämatokrit	l/l	M 0.40-0.46 W 0.36-0.43	0.41 [0.39;0.42]	0.61 [0.54;0.66]	< 0.001
MCV	fl	80.0-97.0	86.8 [84.6;89.3]	92.1 [87.2;97.2]	< 0.001
MCH	pg/Ery	28.0-33.0	30.0 [28.9;30.7]	32.3 [30.1;33.6]	< 0.001
Thrombozyten	10 <sup>9</sup> /l	140-400	214 [179;282]	130 [96.8;162]	< 0.001
Leukozyten	10 <sup>9</sup> /l	3.50-10.00	7.05 [6.18;7.96]	6.17 [5.56;7.98]	0.117
Retikulozyten	/10 <sup>3</sup> Ery	4.00-16.00	9.00 [8.00;12.0]	15.0 [13.0;20.0]	< 0.001
INR		0.85-1.27	1.00 [1.00;1.15]	1.30 [1.10;2.00]	< 0.001
Kreatinin	mg/dl	M 0.6-1.3 W 0.6-1.2	0.75 [0.63;0.92]	0.82 [0.74;0.97]	0.018
GOT	U/l	M 10.0-40.0 W 10.0-35.0	23.5 [20.3;30.1]	26.0 [20.9;35.6]	0.113
GPT	U/l	M 10.0-50.0 W 10.0-35.0	19.7 [15.0;29.1]	23.0 [17.1;30.7]	0.351
Harnsäure	mg/dl	2.30-7.00	5.50 [4.33;6.44]	7.44 [6.26;9.72]	< 0.001
Gesamtprotein	g/dl	6.50-8.50	7.25 [6.84;7.50]	7.34 [6.96;7.79]	0.156
CRP	mg/l	-5.00	1.16 [0.70;2.30]	2.43 [0.88;7.23]	0.002
Ferritin	ng/ml	15.0-400.0	72.4 [40.3;132]	63.1 [33.0;152]	0.856
sTfR	mg/l	1.90-5.00	2.66 [2.39;3.18]	6.21 [4.30;8.55]	< 0.001
NT-proBNP	ng/l	-400	198 [90.2;532]	645 [302;1380]	< 0.001
MPV	fl	7.0-12.0	10.7 [9.85;11.8]	10.4 [9.88;11.4]	0.398

### 3.2 ROTEM®- und Multiplate®-Untersuchungen bei zyanotischen und azyanotischen EMAH

#### Thrombelastographie nach dem ROTEM®-Verfahren

In der Thrombelastographie nach dem ROTEM®-Verfahren lagen alle erfassten Messparameter bei den azyanotischen Patienten im Referenzbereich.

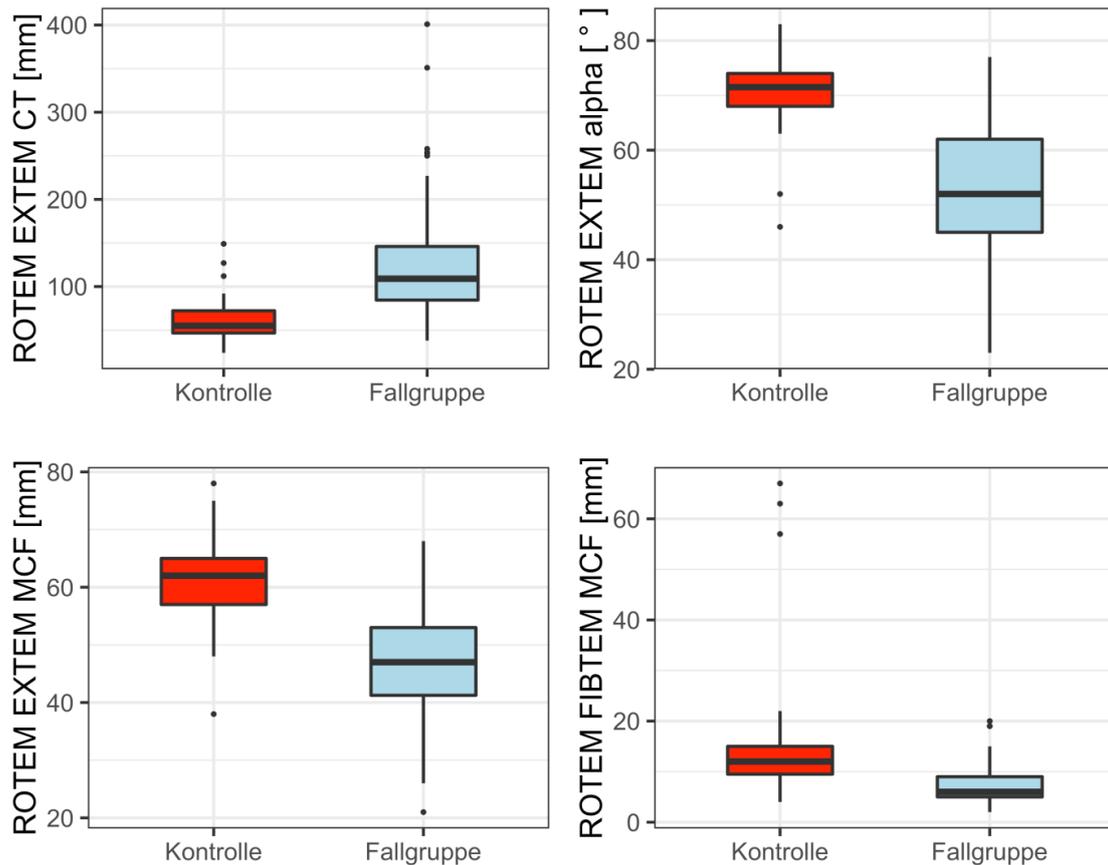
Bei Zyanotikern wichen die Ergebnisse im Median vom Referenzbereich ab. EXTEM-CT war verlängert, EXTEM-alpha, EXTEM-MCF und FIBTEM-MCF vermindert.

Es zeigten sich in der **Thrombelastographie nach dem ROTEM®-Verfahren** für alle Parameter signifikante Unterschiede zwischen zyanotischen und azyanotischen Patienten.

In der Gruppe der Zyanotiker waren die EXTEM-CT-Werte höher, die EXTEM-alpha-, EXTEM-MCF- und FIBTEM-MCF-Werte niedriger als in der azyanotischen Kontrollgruppe (Tabelle 5 und Abbildung 8).

**Tabelle 5:** Vergleich der ROTEM®-Ergebnisse bei zyanotischen und azyanotischen EMAH. Zyanotiker zeigen im EXTEM eine signifikant verlängerte Gerinnungszeit sowie eine reduzierte Kinetik der Gerinnungsbildung. Die maximale Ausprägung des Gerinnsels ist sowohl im EXTEM als auch im FIBTEM signifikant vermindert.

Test	Einheit	Referenzbereich	Azyanotische AHF	Zyanotische AHF	p-Wert
<b>ROTEM®</b>			<b>n = 48</b>	<b>n = 76</b>	
EXTEM-CT	s	38.0-79.0	55.0 [46.8;72.2]	109 [84.5;146]	< 0.001
EXTEM-alpha	°	63.0-83.0	71.5 [68.0;74.0]	52.0 [45.0;62.0]	< 0.001
EXTEM-MCF	mm	50.0-72.0	62.0 [57.0;65.0]	47.0 [41.2;53.0]	< 0.001
FIBTEM-MCF	mm	9.0-25.0	12.0 [9.50;15.0]	6.0 [5.0;9.0]	< 0.001



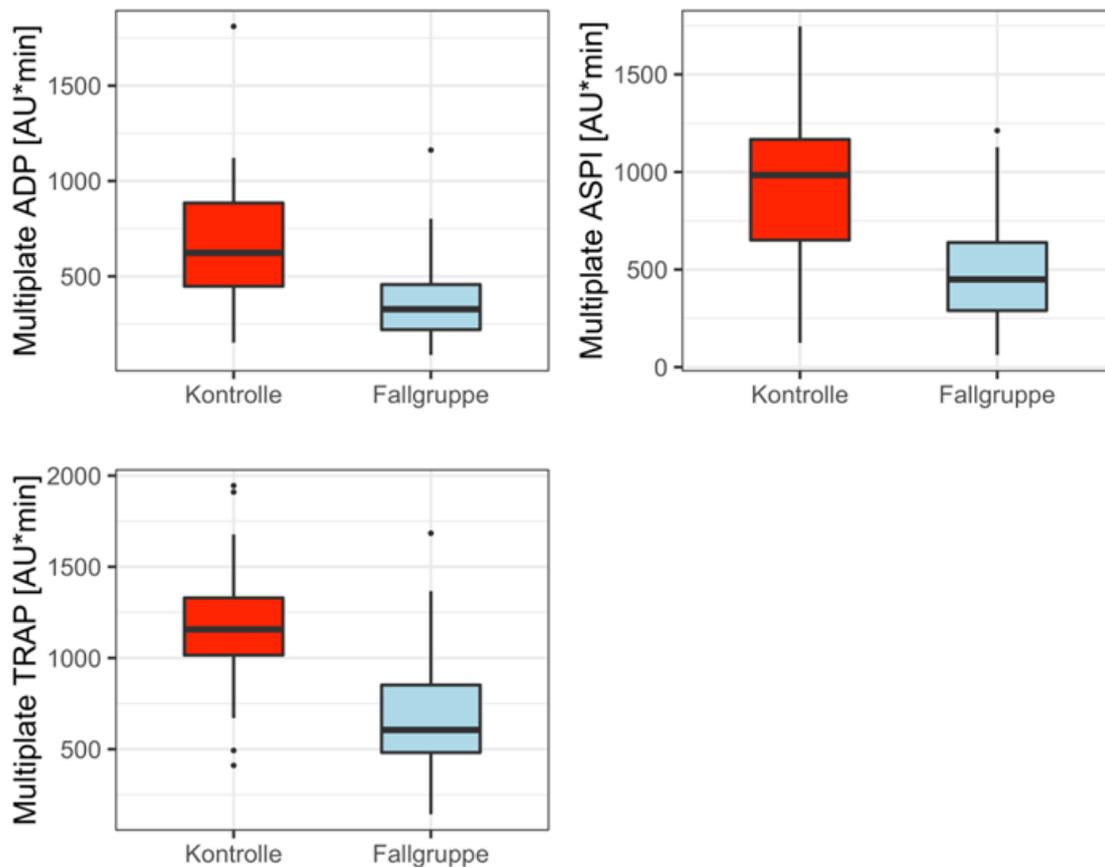
**Abbildung 8:** Vergleich der ROTEM®-Ergebnisse bei zyanotischen (Fallgruppe) und azyanotischen (Kontrolle) EMAH. Signifikante Unterschiede in allen Messreihen bei zyanotischen EMAH. Im EXTEM zeigte sich eine verlängerte Gerinnungszeit sowie eine reduzierte Kinetik der Gerinnselformung. Die maximale Ausprägung des Gerinnsels war sowohl im EXTEM als auch im FIBTEM bei Zyanotikern vermindert. In den Abbildungen sind Boxplots dargestellt mit den Medianen, Interquartilbereichen, Whiskern (1,5fache Standardabweichung) sowie Extremwerte.

### Impedanzaggregometrie mit dem Multiplate®-Analyzer

In der Multiplate-Analyse lagen alle erfassten Messparameter azyanotischer Patienten im Referenzbereich. Bei allen zyanotischen Patienten zeigte die **Impedanzaggregometrie mit dem Multiplate®-Analyzer** eine signifikant geringere Thrombozytenaggregationsfähigkeit im Vergleich zu azyanotischen Patienten (Tabelle 6, Abbildung 9).

**Tabelle 6:** Vergleich der Multiplate®-Ergebnisse bei zyanotischen (Fallgruppe) und azyanotischen (Kontrolle) EMAH. Zyanotiker wiesen im ADPtest, ASPItest und TRAPtest eine verminderte Thrombozytenaggregationsfähigkeit auf.

Test	Einheit	Referenzbereich	Azyanotische EMAH	Zyanotische EMAH	p-Wert
<b>Multiplate®</b>			<b>n = 48</b>	<b>n = 76</b>	
ADPtest	AU*min	500-1200	623 [448;885]	328 [220;457]	< 0.001
ASPItest	AU*min	700-1300	984 [650;1167]	450 [290;638]	< 0.001
TRAPtest	AU*min	900-1600	1157 [1016;1330]	606 [482;852]	< 0.001



**Abbildung 9:** Vergleich der Multiplate®-Ergebnisse bei zyanotischen (Fallgruppe) und azyanotischen (Kontrolle) EMAH. Die Messergebnisse aus der Impedanzaggregometrie sind bei Zyanotikern signifikant vermindert. Dies entspricht einer verminderten Thrombozytenfunktion sowohl bei Testung mit ADP, Arachidonsäure als auch TRAP.

### 3.3 ROTEM®- und Multiplate®-Untersuchungen bei Eisenmenger-Syndrom

Von 76 zyanotischen Patienten hatten 39 Patienten ein Eisenmenger-Syndrom. Die Eisenmenger-Patienten wurden hinsichtlich hämatologisch-rheologischer Aberrationen mit den zyanotischen Probanden ohne Eisenmenger-Reaktion verglichen.

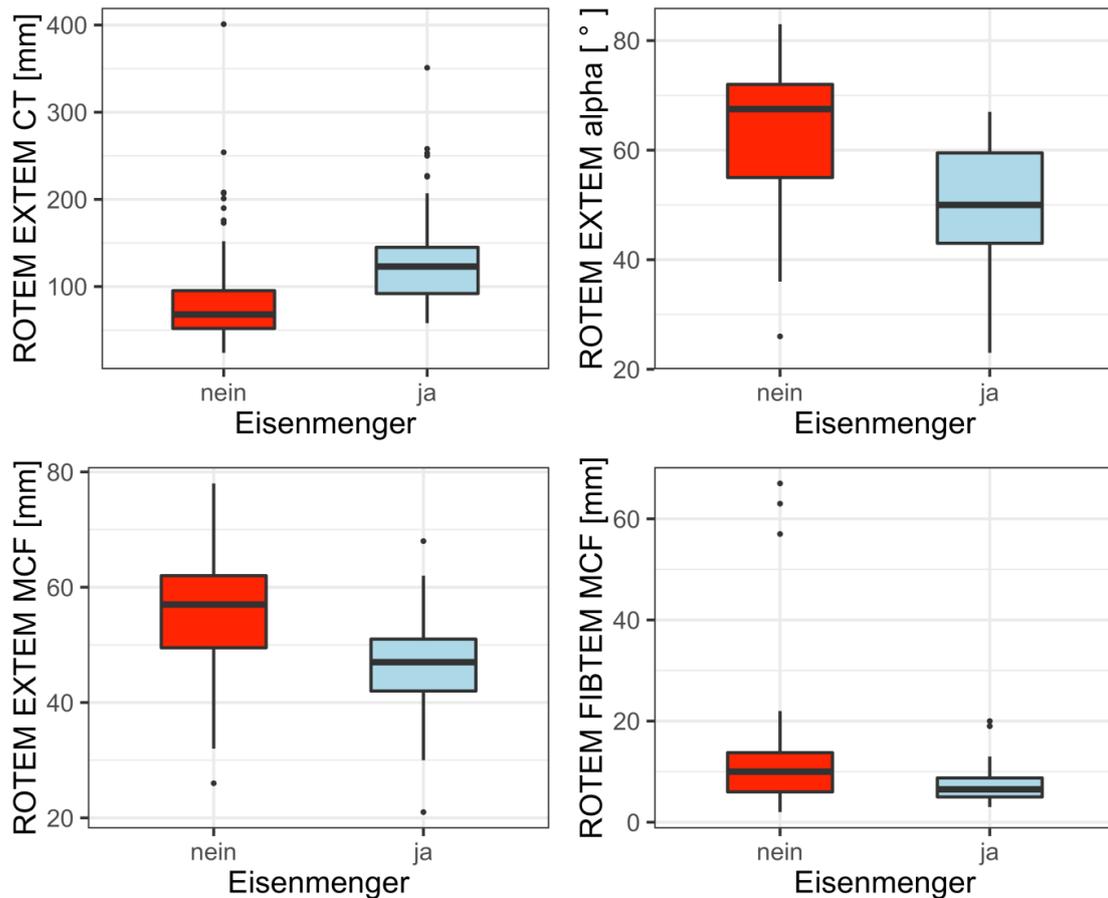
#### Thrombelastographie nach dem ROTEM®-Verfahren bei Eisenmenger-Syndrom

In der Thrombelastographie nach dem ROTEM®-Verfahren lagen alle erfassten Messparameter bei den zyanotischen Patienten mit oder ohne Eisenmenger-Reaktion außerhalb des Referenzbereiches. Die EXTEM-CT-Werte lagen alle oberhalb, die EXTEM-alpha-, EXTEM-MCF- und FIBTEM-MCF-Werte unterhalb des Referenzbereichs.

Bei der **Thrombelastographie nach dem ROTEM®-Verfahren** unterschieden sich die beiden Gruppen nicht signifikant hinsichtlich EXTEM-CT, EXTEM-alpha, EXTEM-MCF und FIBTEM-MCF (Tabelle 7, Abbildung 10).

**Tabelle 7:** Vergleich der ROTEM®-Analyse bei zyanotischen Patienten mit und ohne Eisenmenger - Reaktion. Hier zeigt sich kein signifikanter Unterschied in der Thromboelastographie.

Test			Kein Eisenmenger	Eisenmenger	p-Wert
ROTEM®	Einheit	Referenzbereich	n = 37	n = 39	
EXTEM-CT	s	38.0-79.0	96.5 [69.8;148]	123 [92.0;145]	0.16
EXTEM-alpha	°	63.0-83.0	54.5 [47.8;62.5]	50.0 [43.0;59.0]	0.116
EXTEM-MCF	mm	50.0-72.0	46.5 [41.0;54.2]	47.0 [42.0;51.0]	0.846
FIBTEM-MCF	mm	9.0-25.0	6.00 [4.00;9.00]	6.50 [5.00;8.75]	0.356



**Abbildung 10:** Vergleich der ROTEM®-Analyse bei zyanotischen Patienten mit und ohne Eisenmenger-Reaktion. Die Thromboelastographie zeigt keine signifikanten Unterschiede.

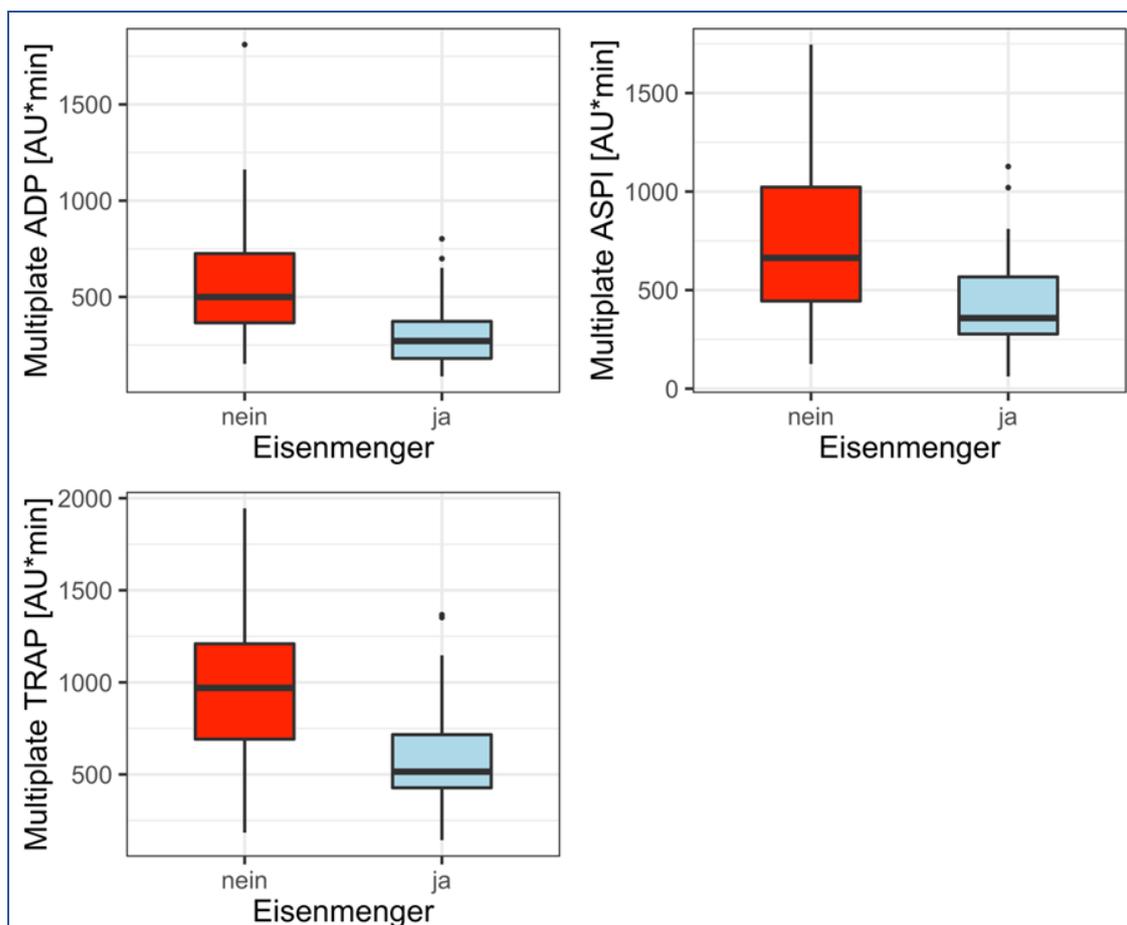
### Impedanzaggregometrie mit dem Multiplate®-Analyser bei Eisenmenger-Syndrom

In der Multiplate-Analyse lagen alle erfassten Messparameter bei den zyanotischen Patienten mit oder ohne Eisenmenger-Reaktion unterhalb des Referenzbereiches.

Bei der **Multiplate®-Analyse** hatten zyanotische Patienten mit Eisenmenger-Syndrom signifikant niedrigere Werte im ADPtest und TRAPtest als Patienten ohne Eisenmenger-Reaktion. Die Werte im ASPItest waren bei Eisenmenger-Patienten ebenfalls verringert, erreichten aber nicht das Signifikanzniveau (Tabelle 8, Abbildung 11).

**Tabelle 8:** Multiplate®-Analyse bei zyanotischen AHF mit und ohne Eisenmenger-Syndrom. Bei Eisenmenger-Patienten war die Thrombozytenfunktion im Vergleich zu Zyanotikern ohne Eisenmenger-Reaktion im ADPtest, ASPItest und TRAPtest vermindert.

Test			Kein Eisenmenger	Eisenmenger	p-Wert
Multiplate®	Einheit	Referenzbereich	n = 37	n = 39	
ADPtest	AU*min	500-1200	378 [252;518]	271 [180;373]	0.003
ASPItest	AU*min	700-1300	566 [348;643]	358 [277;567]	0.097
TRAPtest	AU*min	900-1600	698 [558;875]	515 [428;716]	0.007



**Abbildung 11:** Vergleich der Multiplate®-Analyse bei Eisenmenger-Syndrom. Eisenmenger-Patienten zeigten eine ausgeprägtere Störung der Thrombozytenfunktion in allen drei Testreihen im Vergleich zu Zyanotikern ohne ein derartiges Krankheitsbild.

### **3.4 ROTEM®- und Multiplate®-Untersuchungen bei zyanotischen EMAH unter Vitamin-K-Antagonisten**

In der Gruppe der zyanotischen Patienten (n = 76) hatten 20 eine Dauermedikation mit einem Vitamin-K-Antagonisten.

#### **Thrombelastographie nach dem ROTEM®-Verfahren bei zyanotischen EMAH unter Vitamin-K-Antagonisten**

In der Thrombelastographie nach dem ROTEM®-Verfahren lagen alle erfassten Messparameter bei den zyanotischen Patienten mit oder ohne Vitamin-K-Antagonisten außerhalb des Referenzbereiches. Die EXTEM-CT-Werte lagen alle oberhalb, die EXTEM-alpha-, EXTEM-MCF- und FIBTEM-MCF-Werte unterhalb des Referenzbereichs.

Zwischen den Gruppen ohne und unter Vitamin-K-Antagonisten ergaben sich in der ROTEM®-Analyse keine signifikanten Unterschiede bezüglich CT im EXTEM, Alpha-Winkel, MCF im EXTEM und FIBTEM (Tabelle 9).

#### **Impedanzaggregometrie mit dem Multiplate®-Analyzer bei zyanotischen EMAH unter Vitamin-K-Antagonisten**

In der Multiplate-Analyse lagen alle erfassten Messparameter bei den zyanotischen Patienten mit oder ohne Vitamin-K-Antagonisten unterhalb des Referenzbereiches.

Auch in der Multiplate®-Analyse bestanden zwischen den Gruppen mit oder ohne Vitamin-K-Antagonisten keine signifikanten Unterschiede im ADPtest, im ASPItest und im TRAPtest (Tabelle 9).

**Tabelle 9:** Ergebnisse der ROTEM®- und Multiplate®-Analyse bei zyanotischen EMAH unter Vitamin-K-Antagonisten. Die Einnahme von Vitamin-K-Antagonisten bedingte keine signifikanten Unterschiede in der Thromboelastographie bzw. in der Impedanzaggregometrie zwischen den Gruppen mit oder ohne Vitamin-K-Antagonisten.

Test	Einheit	Referenzbereich	Vitamin-K-Antagonisten		
			nein	ja	p-Wert
			n = 56	n = 20	
ROTEM-EXTEM-CT	s	38.0-79.0	104.0 [80.0;143.0]	134.0 [96,0;174]	0.260
ROTEM-EXTEM-alpha	°	63.0-83.0	51.0 [43.8;61.0]	58.0 [48.5;62.5]	0.205
ROTEM-EXTEM-MCF	mm	50.0-72.0	47.0 [41,0;53,5]	47.0 [42.5;52.5]	0.819
ROTEM-FIBTEM-MCF	mm	9.0-25.0	6.50 [5.00;9.00]	6.00 [4.50;8.50]	0.700
Multiplate-ADPtest	AU*min	500-1200	324 [216;488]	352 [225;412]	0.986
Multiplate-ASPItest	AU*min	700-1300	418 [270;644]	474 [342;631]	0.629
Multiplate-TRAPtest	AU*min	900-1600	574 [482;852]	653 [490;828]	0.723

### 3.5 Multiplate®-Untersuchungen bei zyanotischen EMAH unter Therapie mit Acetylsalicylsäure

Von 76 Patienten zyanotischen Patienten standen nur 4 unter Acetylsalicylsäure (ASS).

Die Multiplate-Thrombozytenfunktionsdiagnostik zur Messung der ASS-Wirkung auf die Thrombozytenfunktion zeigte Werte deutlich unterhalb des Referenzbereichs.

In der Multiplate®-Analyse zeigte sich bei den Zyanotikern mit und ohne ASS-Therapie keine signifikanten Unterschiede bei den durchgeführten Tests (ADPtest, ASPItest, TRAPtest) (Tabelle 10).

**Tabelle 10:** Multiplate®-Analyse bei zyanotischen EMAH unter Therapie mit Acetylsalicylsäure (ASS). Die Ergebnisse im ADPtest, ASPItest und TRAPtest weisen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen mit und ohne ASS auf. Alle Thrombozytenfunktion zeigen Werte deutlich unterhalb des Referenzbereichs.

Test	Einheit	Referenzbereich	Acetylsalicylsäure		
			nein	ja	p-Wert
<b>Multiplate®</b>			n = 72	n = 4	
ADPtest	AU*min	500-1200	324 [220;457]	360 [289;426]	0.825
ASPItest	AU*min	700-1300	450 [293;638]	310 [174;512]	0.429
TRAPtest	AU*min	900-1600	605 [482;840]	870 [591;1088]	0.329

### 3.6 ROTEM®- und Multiplate®-Untersuchungen in Korrelation zum Hämatokrit

#### Thrombelastographie nach dem ROTEM®-Verfahren

In der ROTEM®-Analyse korrelierten bei zyanotischen EMAH EXTEM-CT und Hämatokritwerte positiv miteinander ( $\rho = 0.521$ ;  $p < 0.001$ ).

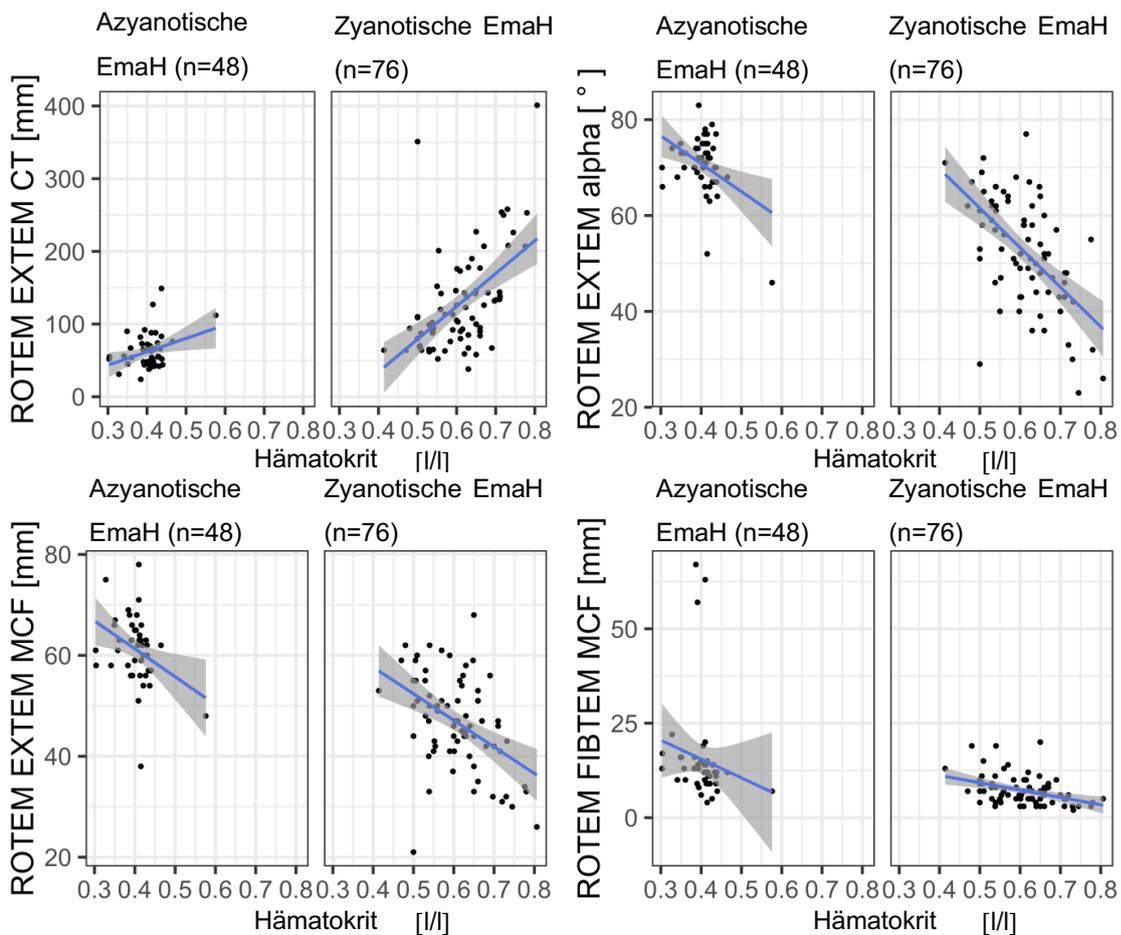
Für EXTEM-alpha, EXTEM-MCF und FIBTEM-MCF zeigten sich bei den zyanotischen EMAH inverse Korrelationen mit dem Hämatokrit-Wert ( $p < 0.001$ ) (Tabelle 11, Abbildung 12).

Bei azyanotischen Probanden zeigte sich keine Korrelation zwischen der Gerinnungszeit im EXTEM-CT und dem Hämatokritwert ( $\rho = 0.147$ ;  $p = 0.317$  bzw. EXTEM-alpha und dem Hämatokritwert ( $\rho = -0.212$ ;  $p = 0.147$ ). EXTEM-MCF und Hämatokrit ( $\rho = -0.403$ ;  $p = 0.004$ ) sowie FIBTEM-MCF und Hämatokrit ( $\rho = -0.4535$ ;  $p = 0.002$ ) zeigten eine inverse Korrelation.

**Tabelle 11:** ROTEM®-Analyse in Korrelation mit dem Hämatokrit.

Signifikante Unterschiede zeigen sich bei den Zyanotikern in allen ROTEM®-Messreihen. Je höher der Hämatokrit ist, desto ausgeprägter war die Aberration in der Thromboelastographie.

Test	Hämatokrit bei azyanotischen EMAH n = 48		Hämatokrit bei zyanotischen EMAH n = 76	
	rho	p-Wert	rho	p-Wert
ROTEM®				
EXTEM-CT	0.147	0.317	0.521	< 0.001
EXTEM-alpha	-0.212	0.147	-0.548	< 0.001
EXTEM-MCF	-0.403	0.004	-0.432	< 0.001
FIBTEM-MCF	-0.435	0.002	-0.405	< 0.001



**Abbildung 12:** ROTEM®-Analyse in Korrelation mit dem Hämatokrit.

Signifikante Unterschiede zeigen sich bei den Zyanotikern in allen ROTEM®-Messreihen.

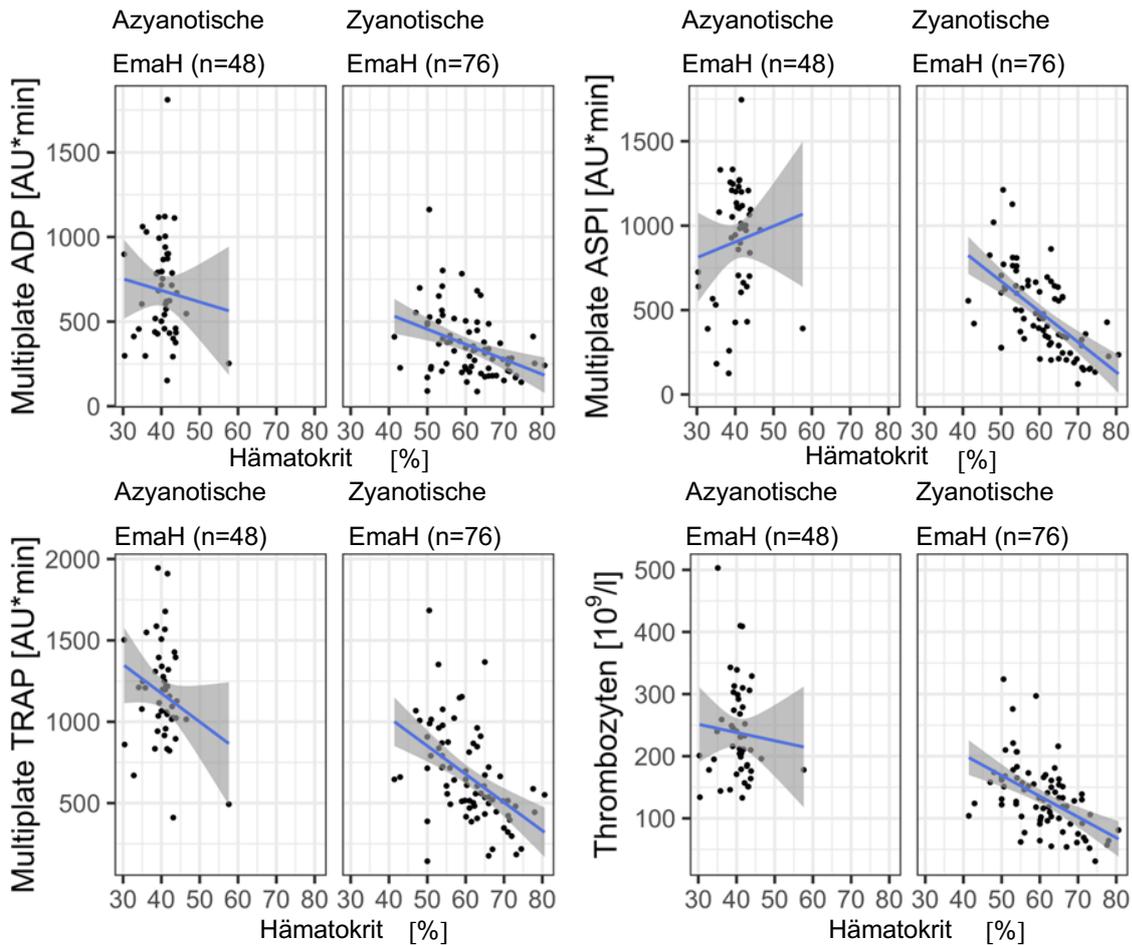
### Impedanzaggregometrie mit dem Multiplate®-Analyzer

In der Impedanzaggregometrie mit dem Multiplate®-Analyzer zeigte sich bei den Zyanotikern eine inverse Korrelation zwischen ADPtest ( $\rho = -0.411$ ), TRAPtest ( $\rho = -0.659$ ), ASPItest ( $\rho = -0.564$ ) und dem Hämatokrit ( $p < 0.001$ ) (Tabelle 12, Abbildung 13).

Bei azyanotischen Probanden ergibt sich kein statistischer Zusammenhang.

**Tabelle 12:** Multiplate®-Analyse in Korrelation mit dem Hämatokrit. Signifikante inverse Korrelation bei zyanotischen Patienten in allen Messreihen der Impedanzaggregometrie ( $p < 0.001$ ).

Test	Hämatokrit bei azyanotischen EMAH n = 48		Hämatokrit bei zyanotischen EMAH n = 76	
	rho	p-Wert	rho	p-Wert
Multiplate® Analyse				
MPADP	-0.101	0.498	-0.411	< 0.001
MPASPI	0.104	0.488	-0.659	< 0.001
MPTRAP	-0.226	0.127	-0.564	< 0.001
Thrombozyten	-0.122	0.409	-0.542	< 0.001



**Abbildung 13:** Multiplate®-Analyse in Korrelation mit dem Hämatokrit. AU\*min = „Area under the Curve“. Kontrolle = azyanotische EMAH, Fallgruppe = zyanotische EMAH.

### 3.7 ROTEM®- und Multiplate®-Untersuchungen in Korrelation zur Thrombozytenzahl

#### Thrombelastographie nach dem ROTEM®-Verfahren

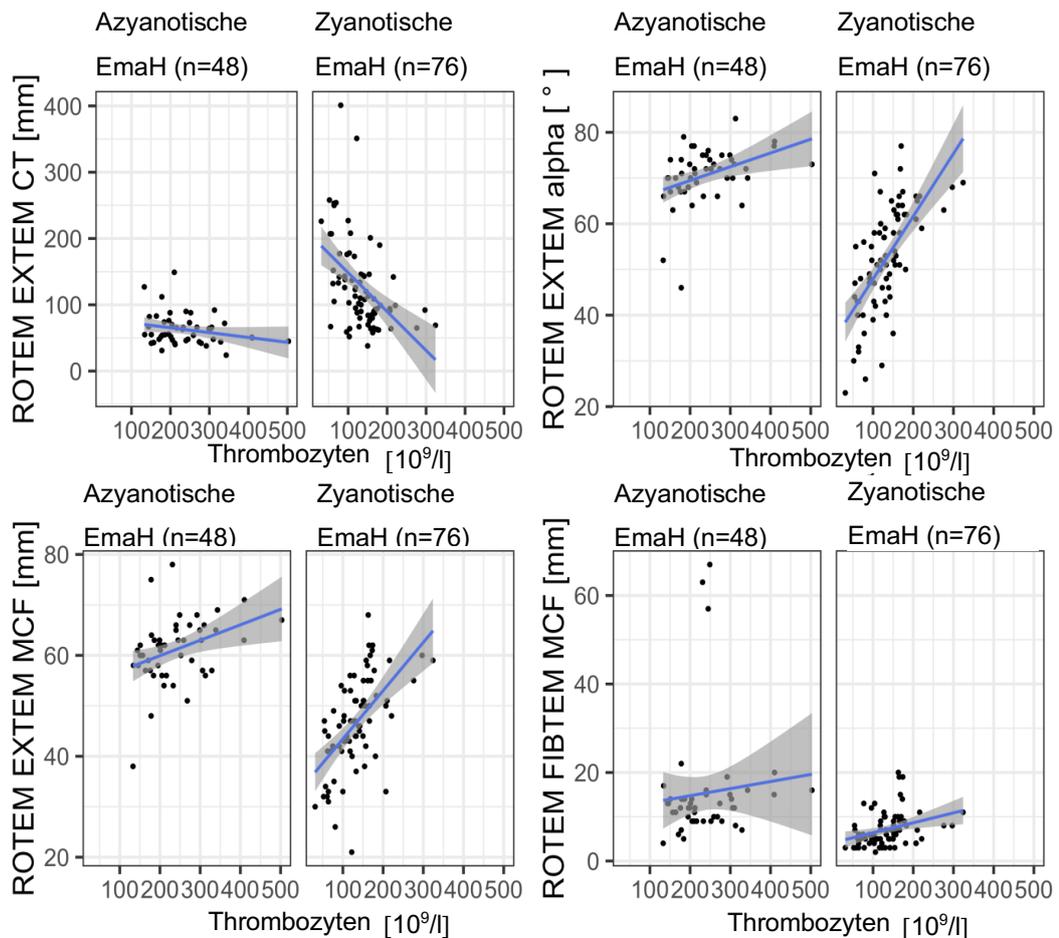
Bei den zyanotischen EMAH korrelierte in der ROTEM®-Analyse die Thrombozytenzahl invers mit EXTEM-CT ( $\rho = -0.535$   $p < 0.001$ ). Eine positive Korrelation ( $p < 0.001$ ) zeigte sich zwischen der Thrombozytenzahl und EXTEM-alpha ( $\rho = 0.695$ ), EXTEM-MCF ( $\rho = 0.617$ ) und FIBTEM-MCF ( $\rho = 0.409$ ) (Tabelle 13, Abbildung 14).

Je niedriger die Thrombozytenzahlen bei Zyanotikern waren, desto länger war die Gerinnungszeit (CT). Je mehr Thrombozyten vorhanden waren, desto größer war die Gerinnselfestigkeit im EXTEM und FIBTEM und desto schneller die Kinetik der Gerinnselformung (ausgedrückt als alpha-Winkel). Lag keine Zyanose vor, waren diese

Korrelationen für EXTEM-CT und FIBTEM-MCF nicht zu sehen. Im EXTEM-alpha ( $\rho = 0.429$ ;  $p = 0.002$ ) und EXTEM-MCF ( $\rho = 0.399$ ;  $p = 0.005$ ) zeigte sich ebenfalls eine signifikante Korrelation für azyanotische Patienten und die Thrombozytenzahl.

**Tabelle 13:** ROTEM®-Analyse in Korrelation mit der Thrombozytenzahl

Test	Thrombozytenzahl bei azyanotischen EMAH n = 48		Thrombozytenzahl bei zyanotischen EMAH n = 76	
	$\rho$	p-Wert	$\rho$	p-Wert
ROTEM®				
EXTEM-CT	-0.204	0.165	-0.535	< 0.001
EXTEM-alpha	0.429	0.002	0.695	< 0.001
EXTEM-MCF	0.399	0.005	0.617	< 0.001
FIBTEM-MCF	0.182	0.222	0.409	< 0.001



**Abbildung 14:** ROTEM®-Analyse in Korrelation mit der Thrombozytenzahl. Je niedriger die Thrombozytenzahl bei Zyanotikern war, desto länger war die Gerinnungszeit (CT). Je mehr Thrombozyten vorhanden waren, desto größer war die Gerinnselfestigkeit im EXTEM und FIBTEM und desto schneller die Kinetik der Gerinnselformung (ausgedrückt als alpha-Winkel).

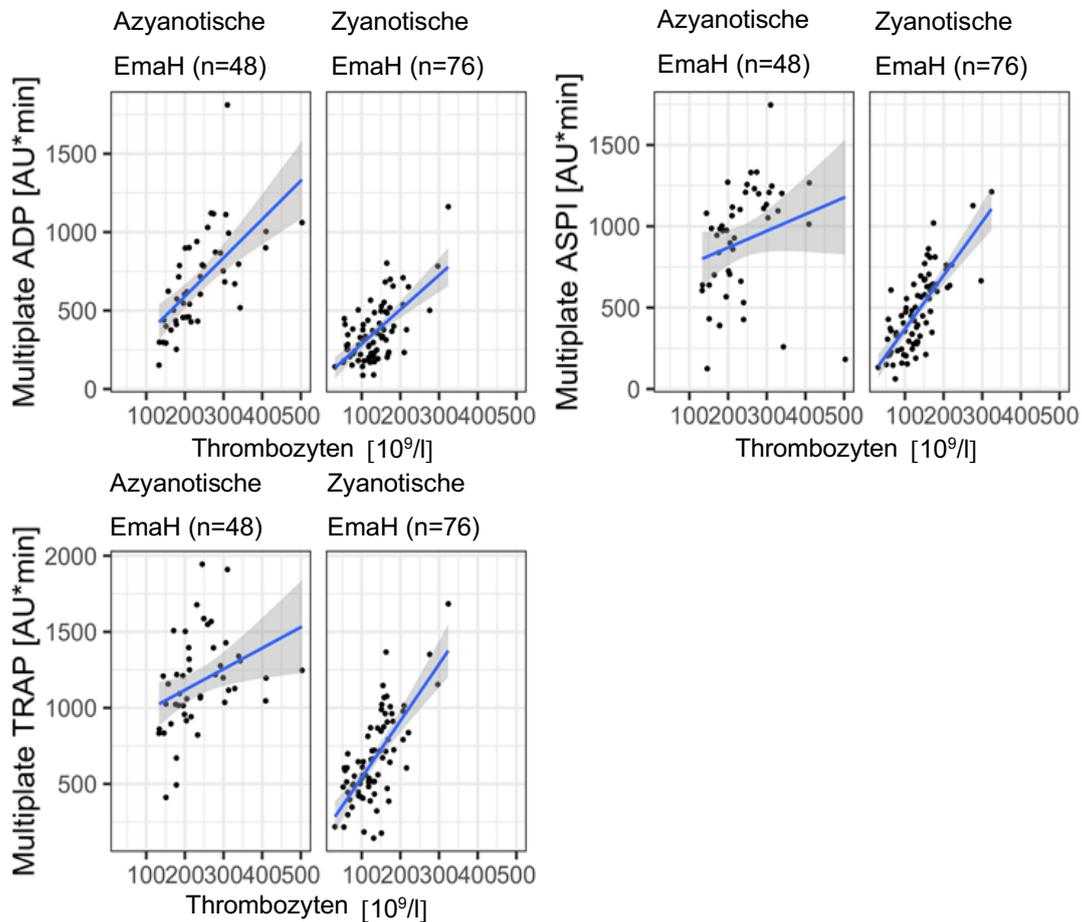
### Impedanzaggregometrie mit dem Multiplate®-Analyser

In der Impedanzaggregometrie korrelierte die Thrombozytenzahl in beiden Gruppen signifikant positiv mit den Multiplate®-Ergebnissen im ADPtest, ASPItest und TRAP6test (Tabelle 14, Abbildung 15).

Es zeigte sich bei zyanotischen EMAH eine signifikant positive Korrelation zwischen den Thrombozytenzahlen und allen Testreihen der Impedanzaggregometrie (ADPtest, ASPItest, TRAPtest). Im ADPtest betrug rho 0.749, im ASPItest 0.738 und im TRAPtest 0.640. Auch die Kontrollgruppe der azyanotischen Probanden zeigte eine positive Korrelation, wenn auch nicht so ausgeprägt wie bei den zyanotischen Patienten.

**Tabelle 14:** Multiplate®-Analyse in Korrelation mit der Thrombozytenzahl

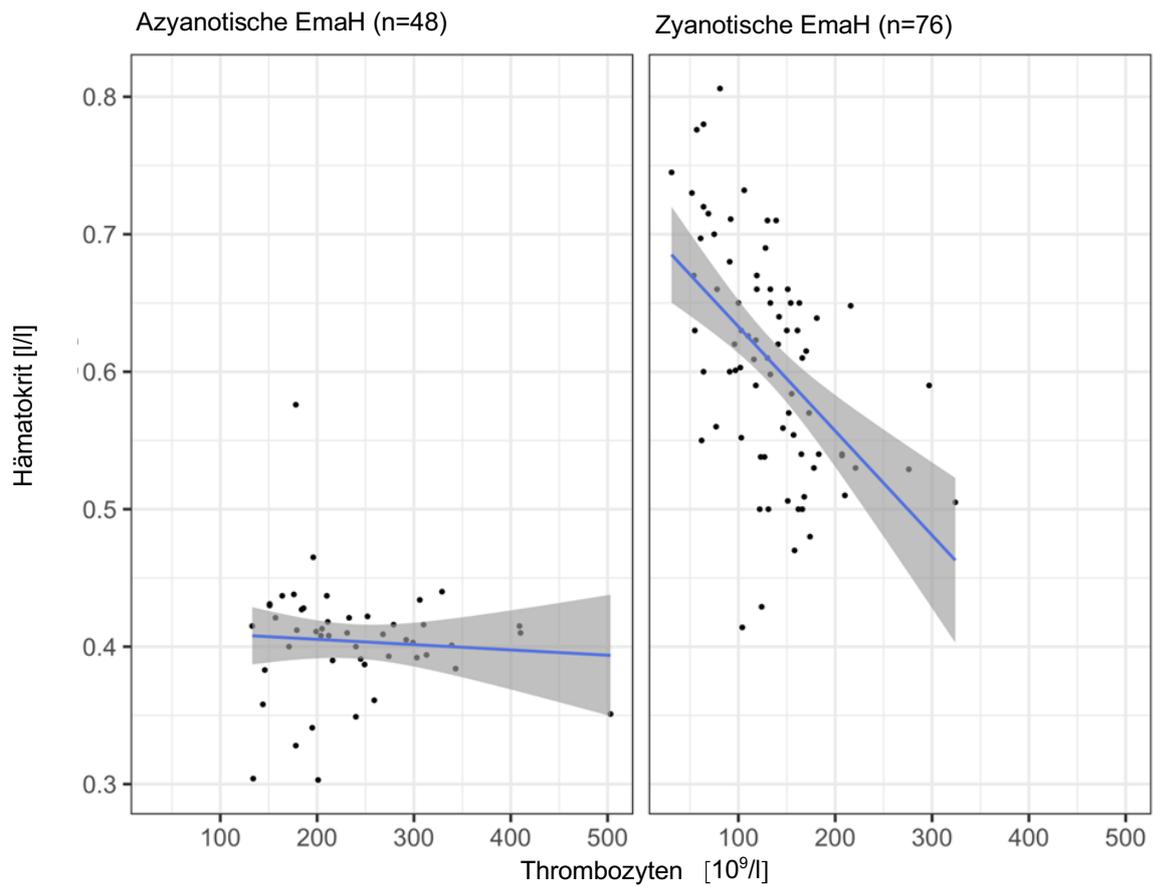
Test	Thrombozytenzahl bei azyanotischen EMAH (n = 48)		Thrombozytenzahl bei zyanotischen EMAH (n = 76)	
	rho	p-Wert	rho	p-Wert
Multiplate®				
MPADP	0.509	0.001	0.749	< 0.001
MPASPI	0.478	0.001	0.738	< 0.001
MPTRAP	0.492	0.001	0.640	< 0.001



**Abbildung 15:** Multiplate®-Analyse in Korrelation mit der Thrombozytenzahl. Es zeigte sich bei zyanotischen EMAH eine signifikant positive Korrelation zwischen den Thrombozytenzahlen und allen Testreihen der Impedanzaggregometrie (ADPtest, ASPItest, TRAPtest).

### 3.8 Korrelation zwischen Thrombozytenzahl und Hämatokrit

Bei zyanotischen Patienten (n = 76) korrelierten Thrombozytenzahl und Hämatokrit invers miteinander ( $\rho = 0.542$ ;  $p < 0.0001$ ). Bei azyanotischen Probanden (n = 48) war dieser Zusammenhang nicht zu sehen ( $\rho = -0.122$ ;  $p = 0.409$ ) (Abbildung 16).



**Abbildung 16:** Korrelation zwischen Thrombozytenzahl und Hämatokrit.

## 4. Diskussion

### 4.1 Allgemeines

Die vorliegende Studie zeigt, dass zyanotische Erwachsene mit AHF hämatologisch-rheologische Aberrationen aufweisen, die mit Thrombelastometrie und Impedanzaggregometrie detailliert erfasst werden können. Das ROTEM®-Verfahren bzw. die Multiplate®-Analyse bieten dabei die Möglichkeit zur schnellen und umfassenden Bestimmung der Thrombozytenfunktion und zur Stratifizierung des Blutungsrisikos.

Eine derartige Analytik kann aus klinischer Sicht auch bei zyanotischen Patienten mit AHF erforderlich werden, da bei diesen eine signifikant erhöhte Blutungstendenz auf dem Boden diverser, zyanosebedingter Gerinnungsstörungen besteht. Diese korrelieren mit einer fast regelhaft vorhandene Thrombozytopenie, einer gestörten Thrombozyten-Aggregation sowie einer Hyperviskosität des Blutes im Rahmen einer sekundären Erythrozytose (Bhardwaj, Malhotra et al. 2017).

Maurer et. al. beobachteten bei zyanotischen EMAH in 37.8 % der Fälle eine verminderte Thrombozytenaggregation (Maurer, McCue et al. 1972). Diese korrelierte bei zyanotischen Patienten positiv mit dem Schweregrad einer Hypoxämie bzw. einer sekundären Erythrozytose (Horigome, Hiramatsu et al. 2002). Betroffene Patienten weisen außerdem eine verminderte Antithrombin-III-Aktivität und eine verminderte Thrombozytenzahl auf, das Bild einer chronisch kompensierten intravaskulären Gerinnungsstörung (Ghasemi, Horri et al. 2014). Anders als bei azyanotischen Probanden beobachtet man bei Zyanotikern neben einer verminderten Thrombozytenzahl und Thrombozytenaggregation auch vermehrt Plättchenmikropartikel, eine P-Selectin-Expression sowie eine verminderte Expression von Glykoprotein IIb bzw. IIIa (Ismail and Youssef 2013).

#### Thrombozytenzahl

Auch in der vorliegenden Untersuchung hatten Patienten mit zyanotischen AHF eine gegenüber dem Kontrollkollektiv signifikant verminderte Thrombozytenzahl ( $130 \times 10^9$ / versus  $214 \times 10^9$  (Referenzbereich:  $140 - 400 \times 10^9$ /l).

Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass bei zyanotischen Patienten im Knochenmark reaktiv vermehrt Erythroblasten gebildet werden. Hierdurch nimmt allerdings die Bildung von Megakaryozyten ab, aus denen wiederum die Thrombozyten entstehen (Lill, Perloff et al. 2006).

Außerdem erhöht bei Erwachsenen mit zyanotischen AHF eine sekundäre Erythrozytose die Blutviskosität, was einen negativen Effekt auf Blutfluss und Gewebedurchblutung hat (Replogle, Meiselman et al. 1967). Die im Gefäßsystem resultierende Stase macht die Patienten anfällig für eine vermehrte intravasale Fibrin- und Thrombenbildung, dem Bild einer disseminierten intravasalen Gerinnung mit vermehrtem Verbrauch von Thrombozyten und Gerinnungsfaktoren entsprechend (Tempe and Virmani 2002). Durch den erhöhten Scherstress im Gefäßsystem kommt es zudem bei einer Erythrozytose zum vermehrten Auftreten von Mikropartikeln aus Thrombozyten. Zudem konnte eine japanische Arbeitsgruppe einen signifikanten Zusammenhang zwischen erhöhtem Hämatokrit und verminderten Plättchenaggregationsfähigkeit nachweisen (Horigome, Hiramatsu et al. 2002).

Auch in der vorliegenden Studie bestand bei zyanotischen EMAH eine stark inverse Korrelation zwischen erhöhten Hämatokrit-Werten bzw. Erythrozytenzahlen und erniedrigten Thrombozytenzahlen (Horigome, Hiramatsu et al. 2002, Lill, Perloff et al. 2006, Jensen, Johansson et al. 2013).

Wie auch in unserer Studie, unterschieden sich die Werte für das mittlere Thrombozytenvolumen bei Horigome et. al. nicht. Dies kann bedeuten, dass die verminderte Plättchenaggregation nicht alleine von einer gestörten Thrombozyten-Fragmentation aus Megakaryozyten stammt. Bei hohem Hämatokrit kommt es zu einem vermehrten Scherstress und in der Zirkulation befinden sich „inkompetente“, bereits degranulierte Plättchen, evtl. als physiologische Anpassung, die eine Thrombenbildung bei hohem Hämatokrit und hierdurch erhöhter Blutviskosität verhindern (Horigome, Hiramatsu et al. 2002).

Bei zyanotischen Patienten ist zu beachten, dass die Megakaryozyten, aus denen die Thrombozyten im Lungenbett entstehen, nur in vermindertem Ausmaß ihr Bestimmungsziel erreichen. Bedingt durch den Rechts-Links-Shunt gelangen die

Megakaryozyten nicht in die pulmonalen Mikrogefäße, sondern direkt in die systemische Zirkulation, wo sie u.a. an der Entstehung von Nierenschäden und Trommelschlegelakren beteiligt sind (Lill, Perloff et al. 2006).

Falls bei zyanotischen AHF eine Leberfibrose oder -zirrhose vorliegt, könnte es im Rahmen einer Splenomegalie bei portaler Hypertonie zusätzlich zu einer Sequestration von Thrombozyten in der Milz kommen (Mattes, Connor et al. 2016). Außerdem wird in einer geschädigten Leber weniger Thrombopoetin gebildet, was ebenfalls zu einer Thrombopenie beiträgt (Schwartz, Sullivan et al. 2013). Alternative Modelle zeigen, dass die Abschnürung von größeren, noch unreifen Thrombozyten aus Megakaryozyten im Knochenmark erfolgt, weshalb kaum Megakaryozyten im Blut nachweisbar sind. Die immaturren Thrombozyten reifen dann erst in der Blutzirkulation heran und werden dann funktionsfähig.

#### **4.2 ROTEM®- und Multiplate®-Untersuchungen bei zyanotischen und azyanotischen EMAH**

##### **Thrombelastographie nach dem ROTEM®-Verfahren bei zyanotischen und azyanotischen EMAH**

In der ROTEM®-Analyse zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen zyanotischen und azyanotischen Probanden.

So war bei zyanotischen Patienten in allen Messungen als Ausdruck eines hypokoagulablen Gerinnungsstatus die Gerinnungszeit verlängert, die Kinetik der Gerinnselbildung und die maximale Ausprägung des Gerinnsels vermindert.

Diese Befunde passen zu Ergebnissen von Jensen et al., die bei zyanotischen Erwachsenen ebenfalls eine Hypokoagulabilität des Blutes fanden (Jensen, Johansson, et al., 2013a).

Unterschiede im Gerinnungsverhalten konnten auch zwischen zyanotischen und azyanotischen Kindern nachgewiesen werden, wobei zyanotische Kinder eine verlängerte Gerinnselbildungszeit und eine verminderte maximale Ausprägung der Gerinnselhaftigkeit aufwiesen (Osthaus et al., 2008).

Klinisch ist dies relevant, da bei zyanotischen Patienten häufig eine vermehrte perioperativen Blutungsneigung besteht. So korrelieren bei zyanotischen Patienten derartige pathologische ROTEM®-Ergebnissen häufig mit einer vermehrten Blutung aus Thoraxdrainagen (Bhardwaj et al., 2017).

Demgegenüber konnte bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit im Rahmen eines kardiochirurgischen Eingriffes kein Zusammenhang zwischen Aberrationen in der ROTEM®-Analyse und der Blutungsmenge aus Thoraxdrainagen gesehen werden. Allerdings war bei physiologischen Werten in der ROTEM®-Messung eine vermehrte Blutungsneigung auszuschließen (Davidson, McGrowder et al. 2008).

Bei den FIBTEM-Messungen ist der Einfluss der Thrombozyten auf die Gerinnung inhibiert und die Gerinnungsbildung ist lediglich abhängig von der Fibrinbildung bzw. -polymerisation (Kettner et al., 1999). Da die ROTEM®-Analyse in unserer Studie pathologische Werte aufzeigte und die Blutgerinnung somit gestört ist, spricht dies für einen Fibrinogenmangel, wie er bei zyanotischen Patienten vorbeschrieben ist (Tempe and Virmani 2002). Einen solchen hypokoagulablen Zustand sahen auch Jensen et. al., wobei auch sie eine verminderte Fibrinogenfunktion feststellten (Jensen, Johansson et al. 2013). Neben diesen Befunden waren jedoch auch die EXTEM®-Ergebnisse in unseren Messungen pathologisch verändert, was auf eine verminderte Gerinnungsfestigkeit bei zyanotischen Patienten hinweist.

### **Impedanzaggregometrie mit dem Multiplate®-Analyser bei zyanotischen und azyanotischen EMAH**

Da neben Fibrinogen und Faktor XIII den Thrombozyten eine entscheidende Rolle bei der Gerinnung zukommt, untersuchten wir auch die Thrombozyten-Funktion mittels Impedanzaggregometrie.

In der Multiplate®-Analyse zeigten sich bei zyanotischen Probanden signifikante Unterschiede gegenüber den azyanotischen Patienten. Die reduzierten Werte im ADPtest, ASPItest und TRAPtest weisen darauf hin, dass es bei Zyanotikern zu einer Hämostasestörung auf Ebene der Thrombozyten kommt.

Eine solche positive Korrelation zwischen dem Ausmaß einer Zyanose mit konsekutiver Erythrozytose und einer gestörten Thrombozytenaggregation konnten bereits Maurer et al. bei 65 Kindern mit angeborenem und fünf Kindern mit erworbenem Herzfehler

nachweisen (Maurer et al., 1972). Sie fanden bei 11% der Kinder mit angeborenem Herzfehler trotz normalen Thrombozytenzahlen milde Blutungssymptome, bei 9% eine verlängerte Blutungszeit. Maurer et al. schlossen daraus auf eine gestörte Thrombozytenfunktion und diskutierten als mögliche pathophysiologische Ursache eine defekte Freisetzung von intrinsischem ADP aus Thrombozyten.

Des Weiteren fanden Maurer et al. eine Korrelation zwischen der Beeinträchtigung der Thrombozytenaggregation und dem Ausmaß einer Hypoxämie und Erythrozytose bei angeborenen Herzfehlern.

Unsere Daten zeigen, dass bei zyanotischen EMAH nicht nur die Thrombozytenzahl vermindert ist, sondern auch die Thrombozytenaggregation gestört ist. Sowohl die Ergebnisse im ADPtest, im ASPItest als auch im TRAPtest belegen eine Hypokoagulabilität. Zu beachten ist bei der Befundinterpretation allerdings der Einfluss einer verminderten Thrombozytenzahl auf die Multiplate®-Messungen (siehe unten).

In unseren Untersuchungen zeigte sich eine inverse Korrelation zwischen den Multiplate®-Messungen und der Thrombozytenzahl, welche bei den zyanotischen Probanden im Vergleich zu den azyanotischen vermindert war.

Es konnte nachgewiesen werden, dass außerhalb einer Thrombozytenzahl von  $150 \times 10^9/l$  bis  $600 \times 10^9/l$  die Impedanzaggregometrie erheblich durch die Thrombozytenzahl beeinflusst (Femia, Scavone et al. 2013). Da bei unseren zyanotischen Probanden die mittlere Thrombozytenzahl auf  $130 \times 10^9/l$  (Range von 96.8 bis 162.0) reduziert war, kann dies die Ergebnisse in der Multiplate®-Analyse beeinflusst haben.

Da wir in unseren eigenen Untersuchungen bei den zyanotischen Patienten eine inverse Korrelation zwischen erhöhten Hämatokritwerten und den Ergebnissen der Impedanzaggregometrie fanden, deuten diese Ergebnisse darauf hin, dass bei sekundärer Erythrozytose im Rahmen eines zyanotischen Herzfehlers eine Störung der Plättchenfunktion vorliegen könnte.

Ähnliche Ergebnisse zur Korrelation zwischen Hämatokrit und Thrombozytenfunktion bei zyanotischen EmaH lieferten auch andere Arbeitsgruppen (Braun S. 2008).

Die gestörte Thrombozytenfunktion bei Patienten mit angeborenen Herzfehlern könnte neben der defekten Freisetzung von intrinsischem ADP aus Thrombozyten auch durch einen Defekt der GPIIb/GPIIIa-Rezeptoren auf den Thrombozyten zu erklären sein, ähnlich wie bei der hereditären Thrombasthenie.

Die beschriebenen Ergebnisse unserer eigenen Untersuchungen könnten klinisch relevant sein für therapeutische Entscheidungen bezüglich einer Antikoagulation oder thrombozyteninhibierenden Therapie bei EMAH.

### **4.3 ROTEM®- und Multiplate®-Untersuchungen beim Eisenmenger-Syndrom**

#### **Thrombelastographie nach dem ROTEM®-Verfahren bei Eisenmenger-Syndrom**

In der ROTEM®-Analyse zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen zyanotischen Patienten mit und ohne Eisenmenger-Syndrom. Lediglich die Gerinnungszeit lag tendenziell höher bei Eisenmenger-Patienten. Dies könnte bedeuten, dass die strukturellen pulmonalvaskulären Veränderungen einer Eisenmenger-Reaktion per se keinen Einfluss auf die Thromboelastographie haben, sondern die Aberrationen eher Folge der Zyanose mit sekundärer Erythrozytose sind.

Vergleichsdaten aus der Literatur sind zu dieser Fragestellung nicht verfügbar.

#### **Impedanzaggregometrie mit dem Multiplate®-Analyzer bei Eisenmenger-Syndrom**

In der Subgruppenanalyse der zyanotischen Patienten hatten Probanden mit Eisenmenger-Reaktion gegenüber Zyanotikern ohne pulmonalvaskuläre Erkrankung im ADPtest und TRAPtest signifikante, im ASPItest statistisch nichtsignifikante Hinweise auf eine verminderte Thrombozytenfunktion. Eine solche Hypokoagulabilität wurde bei Patienten mit Eisenmenger-Reaktion bisher in der Literatur auch nicht beschrieben.

Erklärbar wäre dieser Befund möglicherweise durch einen Defekt eines der beiden Rezeptoren für ADP auf den Thrombozyten, den P2Y<sub>12</sub>-Rezeptor, dem GPIIb/IIIa-Rezeptor oder der Thrombozytenzahl (Ismail and Youssef 2013). Andererseits war die Thrombozytenzahl bei Patienten mit Eisenmenger-Syndrom erniedrigt, was auch eine Beeinflussung der Tests hervorrufen kann.

Schmidt et al. beschrieben bei einem von-Willebrand-Syndrom in der Multiplate®-Analyse eine verminderte Thrombozytenaggregation (Schmidt, Bruzelius et al. 2017). Dieser von-Willebrand Faktor gilt als Marker für eine endotheliale Dysfunktion bei Patienten mit Eisenmenger-Syndrom (de, Maeda et al. 2005) und kann bei ihnen durch erhöhte

Scherkräften mit chronischer Hypoxämie und sekundärer Erythrozytose infolge der pulmonalvaskulären Erkrankung in erhöhter Konzentration auftreten.

Bei zyanotischen Patienten haben schon Ismail et al. eine erhöhte Konzentration des von-Willebrand Faktor-Antigens beschrieben, mit dem die Konzentration des von-Willebrand-Faktors bestimmt wird (Ismail and Youssef 2013). Somit können möglicherweise auch die Daten unserer Studie für das Vorliegen eines erworbenen von-Willebrand-Syndroms bei Eisenmenger-Patienten sprechen.

Klinisch relevant könnte dieser Befund bei Eisenmenger-Patienten für die Entscheidung über den Einsatz von Thrombozytenaggregationshemmern sein, da hierdurch die Thrombozytenfunktion additiv inhibiert würde. Außerdem könnte vor chirurgischen Eingriffen die Gabe von Desmopressin erwogen werden, um die Konzentration des von-Willebrand-Faktors zu erhöhen.

#### **4.4 ROTEM®- und Multiplate®-Untersuchungen bei zyanotischen EMAH unter Vitamin-K-Antagonisten**

##### **Thrombelastographie nach dem ROTEM®-Verfahren bei zyanotischen EMAH unter Vitamin-K-Antagonisten**

In der Thrombelastographie nach dem ROTEM®-Verfahren lagen die EXTEM-CT-Werte alle oberhalb, die EXTEM-alpha-, EXTEM-MCF- und FIBTEM-MCF-Werte unterhalb des Referenzbereichs.

Bei den 20 zyanotischen Patienten, die unter Dauermedikation mit Vitamin-K-Antagonisten standen, fanden sich in der ROTEM®-Analyse keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (Tabelle 9).

Hierzu passen Ergebnisse einer polnischen Studie, in der bei Erwachsenen mit zyanotischen angeborenen Herzfehlern zwar ein hypokoagulabler Zustand in der ROTEM®-Analyse gezeigt werden konnte, die Einnahme oraler Antikoagulantien jedoch keinen signifikanten Einfluss auf die Thromboelastographie-Befunde hatte (Rupa-Matysek et al., 2016).

Bei azyanotischen Patienten nach elektivem Herzklappenersatz zeigen Messungen, dass die in der ROTEM®-Analyse ermittelte Gerinnselbildungszeit für die Therapiesteuerung oraler Antikoagulantien verwendet werden kann (Blasi et al., 2015). Auch bei Patienten mit Vorhofflimmern konnte eine Korrelation zwischen den in der ROTEM®-Analyse erhobenen Testergebnissen im EXTEM-CT und der INR unter Warfarintherapie gezeigt werden (Nilsson, Strandberg, & Reinstrup, 2018; Schmidt et al., 2015).

Ähnlich wie bei den oben erwähnten Arbeiten, sind auch die Beobachtungen von Schmidt et al. (Schmidt et al., 2019), die bei nicht-zyanotischen Patienten mit venösen Thrombosen unter Vitamin-K-Antagonisten in der ROTEM®-Analyse eine verlängerte EXTEM-CT nachweisen konnten.

In unseren Untersuchungen an zyanotischen Patienten waren jedoch keine signifikanten Unterschiede in den Messungen aufgetreten. Ein Grund hierfür könnte die bei diesen Patienten verminderte Thrombozytenzahl sein, die zu einer verminderten Gerinnselbildung führt.

#### **Impedanzaggregometrie mit dem Multiplate®-Analyzer bei zyanotischen EMAH unter Vitamin-K-Antagonisten**

In der Multiplate-Analyse lagen alle erfassten Messparameter bei den zyanotischen Patienten mit oder ohne Vitamin-K-Antagonisten unterhalb des Referenzbereiches.

Bei den zyanotischen EMAH unserer Studie, die Vitamin-K-Antagonisten einnahmen, zeigten sich in der Multiplate®-Analyse allerdings keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen mit und ohne orale Antikoagulation.

#### **4.5 Multiplate®-Untersuchungen bei zyanotischen EMAH unter Therapie mit Acetylsalicylsäure**

Die Multiplate-Thrombozytenfunktionsdiagnostik zur Erfassung der Auswirkung einer Acetylsalicylsäure-Gabe auf die Thrombozytenfunktion bei zyanotischen Patienten zeigte Werte, die alle deutlich unterhalb des Referenzbereichs lagen. Dabei fand sich zwischen den Zyanotikern mit und ohne Acetylsalicylsäure-Therapie kein signifikanter Unterschied.

Eigentlich wäre unter ASS im ASPI-Test ein Unterschied zu erwarten gewesen. In unseren Analysen war hingegen nur ein Trend hin zu einer verminderten Aggregation zu beobachten. Dies kann durch die sehr geringe Fallzahl von n = 4 Patienten sowie eine generelle Verminderung der Aggregation bei Zyanotikern begründet sein.

Neben dem Einfluss von Thrombozytenaggregationshemmern könnten auch andere Faktoren die Multiplate®-Analyse beeinflussen und somit zu einer Verminderung der Aggregation führen.

Zu diskutieren ist ein sekundäres von-Willebrand-Syndrom bzw. ein erhöhter Thrombomodulinspiegel sowie eine erhöhte Konzentration des gewebspezifischen Plasminogenaktivators, wie es im Rahmen einer endothelialen Dysfunktion bei Eisenmengerpatienten beobachtet wird (de, Maeda et al. 2005). Ebenso ist die verminderte Thrombozytenzahl zu beachten.

Die Aussagekraft dieser Befunde ist allerdings wegen der kleinen Probandenzahl gering. Die geringe Probandenzahl ist dadurch bedingt, dass keine Daten vorliegen, dass ASS bei zyanotischen Patienten einen Benefit hat (Diller et al., 2016).

#### **4.6 ROTEM®- und Multiplate®-Untersuchungen in Korrelation zum Hämatokrit**

##### **ROTEM®-Analyse in Korrelation zum Hämatokrit**

In der ROTEM®-Analyse korrelierte bei zyanotischen Patienten die Gerinnelbildung im EXTEM-CT und der Hämatokrit positiv miteinander. EXTEM-alpha, EXTEM-MCF und FIBTEM-MCF zeigten eine inverse Korrelation zum Hämatokrit.

Ähnliche Abnormitäten in der Thromboelastographie wie bei unseren Untersuchungen mit zyanotischen EMAH traten bei gesunden Personen auf, die auf über 5000 m zum Base Camp des Mount Everest aufstiegen. Bei diesen Probanden war es aufgrund der großen Höhe zu einem deutlichen Abfall der peripheren Sauerstoffsättigung und einem signifikanten Anstieg des Hämatokrits hin zu Parametern gekommen, wie sie auch bei zyanotischen Herzfehlern vorkommen können (Martin et al., 2012).

Einen hypokoagulablen Zustand in der Thromboelastographie konnten auch Jensen et. al. bei zyanotischen Herzfehlern beobachten. Hier kam es bei erhöhtem Hämatokrit auch zu

einer reduzierten Fibrinogenfunktion, obwohl die Plasmafibrinogenspiegel nicht vermindert waren (Jensen, Johansson, et al., 2013a).

Gesunden Probanden wurde in einer britischen Studie Blut abgenommen und hieraus eine erythrozytenreiche Suspension angereichert. Durch autologe Erythrozytentransfusion wurde ein deutlich erhöhter Hämatokrit erreicht. Hierbei waren vergleichbare hämatologisch-rheologischen Aberrationen im ROTEM<sup>®</sup>-Verfahren festgestellt worden, wie bei unserem Studienarm der zyanotischen Probanden. CF, PT und APTT waren in diesem hohen Hämatokrit-Modell unverändert zum Normalkollektiv. Das lässt vermuten, dass die Veränderungen im ROTEM<sup>®</sup>-Test nur auf die erhöhte Erythrozytenkonzentration zurückzuführen sind (Westbury et al., 2013).

ROTEM<sup>®</sup>-FIBTEM-MCF ist als Maßstab für den Beitrag von Fibrinogen zur Hämostase labortechnisch etabliert (Haas et al., 2012; Lang et al., 2009; Solomon et al., 2012). In jener britischen Hämatokrit-Studie war im Modell ein Abfall von ROTEM<sup>®</sup>-FIBTEM-MCF gesehen worden, sobald der Hämatokrit anstieg, obwohl sich die Plasmafibrinogenkonzentration nicht änderte. Die Aberrationen im ROTEM<sup>®</sup>-Verfahren können sich dadurch erklären, dass es im Vollblut durch die erhöhte Erythrozytenkonzentration zu einer Verdünnung von Fibrinogen kommt und somit die Fibrinogenaktivität vermindert ist (Westbury et al., 2013).

Durch den hohen Hämatokrit im britischen Modell wurde auch die relative Konzentration anderer plasmatischer Gerinnungsfaktoren im Vollblut reduziert. Dies könnte eine Ursache für die verlängerte Gerinnselbildungszeit im ROTEM<sup>®</sup>-EXTEM-CT bei zyanotischen EMAH als auch im erhöhten Hämatokrit-Modell sein, da die Gerinnselbildungszeit von der Aktivität der Gerinnungsfaktoren abhängig ist (Sorensen and Ingerslev, 2004; Spiezia et al., 2012).

Die in dieser Studie an Erwachsenen mit zyanotischen Herzfehlern erhobenen Daten unterstützen die Ergebnisse der britischen Hämatokrit-Studie (Westbury et al., 2013) und demonstrieren, dass ein erhöhter Hämatokrit einen hypokoagulablen Zustand – gemessen im ROTEM<sup>®</sup>-Verfahren - begünstigen kann, da es durch die Erythrozytose zu einer relativen Verdünnung von Fibrinogen und Gerinnungsfaktoren kommt. Diese Ergebnisse liefern einen Beitrag zur Erklärung, warum Erwachsene mit zyanotischen Herzfehlern eine vermehrte Blutungsneigung aufweisen.

## **Multiplate®-Analyse in Korrelation zum Hämatokrit**

In der Multiplate®-Analyse zeigte sich bei den Zyanotikern eine inverse Korrelation zwischen ADPtest, TRAPtest, ASPItest und dem Hämatokrit.

Bei azyanotischen Probanden ergab sich jedoch kein signifikanter Zusammenhang.

Diese Ergebnisse bedeuten, dass zyanotische Patienten mit einem hohen Hämatokrit schlechtere Ergebnisse in einer Multiplate®-Analyse erzielen als zyanotische Patienten mit einem niedrigen Hämatokrit.

Zu erklären könnten diese Ergebnisse durch eine Thrombozytopenie und Hyperviskosität des Blutes sein, wie sie im Rahmen einer sekundären Erythrocytose bei Zyanotikern vorkommen (Bhardwaj et al., 2017). Klinische Relevanz erhalten diese Befunde bei der Beurteilung von Multiplate-Ergebnissen bei Zyanotikern, da hiermit gezeigt werden konnte, dass in diese Interpretationen der jeweilige Hämatokritwert des Patienten Beachtung finden muss.

Zyanotiker mit sekundärer Erythrozytose weisen zumeist auch niedrige Thrombozytenzahlen auf, was somit auch zu verminderten Ergebnissen in den Analysen führen kann.

## **4.7 ROTEM®- und Multiplate®-Untersuchungen in Korrelation zur Thrombozytenzahl**

### **ROTEM®-Analyse in Korrelation zur Thrombozytenzahl**

In der ROTEM®-Analyse korrelierte die Thrombozytenzahl invers mit EXTEM-CT, die übrigen Parameter positiv mit der Thrombozytenzahl. Dies deutet darauf hin, dass erniedrigte Thrombozytenzahlen in der Thrombelastographie mit einer verminderten Blutgerinnselbildung einhergehen.

Im klassischen Thromboelastographieverfahren kann im Gegensatz zur ROTEM®-Analyse zur Messung nur ein Untersuchungskanal analysiert werden, weswegen bei Aberrationen nicht zwischen einem Fibrinogenmangel oder einer verminderten Thrombozytenzahl unterschieden werden kann. Um eine erniedrigte Thrombozytenzahl zu diagnostizieren, muss zunächst nachgewiesen werden, dass die Fibrin-basierte Gerinnselfestigkeit

normwertig ist. Hierzu wird der Einfluss der Thrombozyten im ROTEM®-FIBTEM durch den Plättcheninhibitor Cytochalasin D blockiert (Schochl, Voelckel et al. 2013).

Wir sahen bei den Zyanotikern eine positive Korrelation zwischen ROTEM®-FIBTEM-MCF und den Thrombozytenwerten in unserer Studie. Ist nach Plättcheninhibition ein Fibrinogenmangel in der ROTEM®-Analyse ausgeschlossen und die Gesamtgerinnselfestigkeit dennoch vermindert, kann ein Thrombozytenmangel diagnostiziert werden (Solomon, Schochl et al. 2015).

Eine Untersuchung an Patienten mit Thrombozytopenie zeigte, dass die maximale Gerinnselfestigkeit im EXTEM in direktem Zusammenhang mit der Thrombozytenzahl steht (Lang et al., 2009).

So sahen auch wir in der Gruppe der zyanotischen EMAH eine positive Korrelation zwischen den Thrombozyten und der Gerinnselfestigkeit CT sowie der maximalen Gerinnselfestigkeit MCF.

Auch bei zyanotischen Kindern, die sich einem operativen Eingriff unterzogen, konnte in der ROTEM®-Analyse eine Korrelation zwischen einer verminderten Thrombozytenzahl und einer reduzierten Gerinnselfestigkeit im EXTEM beobachtet werden (Vida et al., 2016).

Eine ähnliche Korrelation zwischen ROTEM®-EXTEM-MCF und der Thrombozytenzahl war auch bei Patienten nach einer Herzoperation gesehen worden (Ogawa et al., 2012). Aufgrund der erniedrigten Thrombozytenzahlen war die Gerinnselfestigkeit signifikant verlängert und die maximale Gerinnselfestigkeit vermindert. Diese Feststellungen von Solomon et al. erklären auch, warum die Korrelation zwischen dem Alpha-Winkel als Maß der Kinetik der Gerinnselfestigkeit und den erniedrigten Thrombozyten im Zyanosearm stark ausgeprägt ist (Solomon et al., 2015).

Perioperativ konnte bei kardiochirurgischen Eingriffen beobachtet werden, dass ein Anstieg der Thrombozytenzahl zu einer stärkeren Gerinnselfestigkeit führt (von Rappard, Hinnen et al. 2017).

Für Erwachsene mit zyanotischen Herzfehlern sind diese Kenntnisse relevant, da sich eine Thrombozytopenie negativ auf die Gerinnselfestigkeit auswirkt.

## **Multiplate®-Analyse in Korrelation zur Thrombozytenzahl**

Im Zyanosearm der vorliegenden Untersuchung war bei zyanotischen Patienten gegenüber azyanotischen Herzfehlern eine verminderte Thrombozytenzahl aufgefallen. Potentielle Ursachen für niedrige Plättchenzahlen bei zyanotischen EMAH wurden bereits oben diskutiert.

In der Impedanzaggregometrie zeigte sich nun bei EMAH eine positive Korrelation mit der Thrombozytenzahl, wobei die Ergebnisse bei Zyanotikern ausgeprägter waren. Dies bedeutet, dass die Thrombozytenfunktion umso stärker eingeschränkt war, je niedriger die Thrombozytenzahlen lagen.

Bei Kindern, welche an einem VSD oder an einer Fallot'schen Tetralogie operiert wurden, konnte gezeigt werden, dass eine verminderte perioperative Thrombozytenzahl zu pathologischen Ergebnissen bei der Vollblutimpedanzaggregometrie führt und letztlich der Bedarf an Thrombozytenkonzentraten erhöht ist (Romlin et al., 2014).

Im Vollblut ist auch der Einfluss der Erythrozyten zu beachten, die die Thrombozytenaktivierung beeinflussen und zur Thrombinbildung beitragen (Peyrou, Lormeau et al. 1999, Hardy, de Moerloose et al. 2006).

Bei der Multiplate®-Analyse lagern sich aktivierte Thrombozyten an die Messsensoren an, was zur Erhöhung des elektrischen Widerstands führt. Liegt nun wie bei Zyanotikern eine Thrombozytopenie vor, lagern sich auch weniger Thrombozyten an die Messdrähte an, was dann zu den beobachteten Veränderungen der Impedanzaggregometrie führt (Hanke et al., 2010).

Insbesondere bei Thrombozytenzahl außerhalb des Referenzbereichs von  $150 \times 10^9/l$  bis  $600 \times 10^9/l$  wird die Multiplate®-Analyse relevant von der Anzahl an Thrombozyten beeinflusst (Femia, Scavone et al. 2013). In unseren Untersuchungen betrug die mittlere Thrombozytenzahl bei Zyanotikern lediglich  $130 \times 10^9/l$ , weswegen dies die beobachteten Aberrationen erklären könnte.

#### **4.8 Korrelation von Hämatokrit und Thrombozytenzahl**

Bei zyanotischen Patienten korrelierten in der vorliegenden Studie Thrombozytenzahl und Hämatokrit invers miteinander. Bei azyanotischen Probanden war dieser Zusammenhang nicht zu sehen.

Bekannt ist nur, je niedriger die systemische Sauerstoffsättigung bei zyanotischen Patienten ist, desto höher ist der Hämatokrit und desto niedriger die Thrombozytenzahlen (Lill et al., 2006). Neben der Thrombozytenzahl und den Fibrinogenspiegeln scheint vor allem der erhöhte Hämatokrit selbst verschiedene Komponenten der Gerinnung zu beeinflussen und so einen hypokoagulablen Zustand bei zyanotischen Patienten hervorzurufen (Jensen et al., 2013). Die hier zugrundeliegenden Pathomechanismen sind nicht völlig geklärt.

#### **4.9 Studienlimitationen**

Die Studie wurde an einem tertiären Zentrum für Erwachsene mit angeborenen Herzfehlern durchgeführt. Dadurch entspricht die Verteilung der Patienten in Hinblick auf Art und Schwere des zugrundeliegenden Herzfehlers nicht dem typischen Patientengut, das außerhalb eines solchen Zentrums gesehen wird.

Zusätzlich bestehen noch technische Limitationen bezüglich der Durchführung der Untersuchungen. Werden die Teströhren des ROTEM®-Analysegerätes nicht ausreichend bzw. mit zu viel Blut gefüllt, kann es zu Abweichungen der Messergebnisse kommen, insbesondere bei der Gerinnselfestigkeit. Die Geschwindigkeit der Gerinnselfestigkeit scheint hierbei weniger betroffen zu sein. Der Unterschied ist jedoch so gering, dass er vermutlich keine klinische Relevanz hat (Haas, Spielmann et al. 2015). Dennoch wurde dieses Kenntnis in unserer Studie noch nicht berücksichtigt. Daten für zyanotische Patienten liegen diesbezüglich bisher nicht vor. Außerdem konnte nicht sicher ausgeschlossen werden, dass die Probanden noch zusätzlich Medikamente einnahmen, die Einfluss auf die Messparameter haben konnten. Die Zahl der Probanden in der

Studiengruppe war mit 76 Personen größer als in der Kontrollgruppe mit 48 Personen, wobei dies für die statistischen Tests nicht signifikant war.

Bei ROTEM®- und Multiplate®-Analysen sind Messungenauigkeiten zu berücksichtigen. Dennoch sind die Effekte in unseren Untersuchungen deutlich, sodass man von echten klinisch-relevanten Unterschieden in den Ergebnissen ausgehen kann.

Die vorgestellten Daten stammen von Patienten, die in Deutschland leben. Eine Verallgemeinerung der Schlussfolgerungen und Übertragung der gewonnenen Erkenntnisse auf Patienten, die in anderen Ländern oder in anderen Kulturkreisen leben, ist problematisch. Die Messunsicherheit ist bei beiden untersuchten Verfahren erheblich, dennoch sind klare Effekte zu sehen. Weitere Studien sind diesbezüglich erforderlich.

#### **4.10 Schlussfolgerung**

Die beiden Verfahren der **Thrombelastographie nach dem ROTEM®-Verfahren** und die **Thrombozytenfunktionsanalyse (Multiplate®-Analyse)** erweitern auch bei Patienten mit AHF die Gerinnungsdiagnostik.

Neben Standardparametern der Hämatologie, mit denen bei zyanotischen Patienten eine Thrombozytopenie nachweisbar ist, konnte in der vorliegenden Untersuchung das ROTEM®-Verfahren bei zyanotischen EmaH mit sekundärer Erythrozytose einen hypokogulablen Gerinnungsstatus nachweisen. Neben einer verminderten Gerinnselfestigkeit war auch die Gerinnungszeit verlängert. Zudem konnte eine verminderte Fibrinogenaktivität detektiert werden.

In der Multiplate®-Analyse zeigte sich eine Hämostasestörung auf Ebene der Thrombozyten. Zudem zeigte sich eine Korrelation zwischen dem Ausmaß Gerinnungsstörung und der Anzahl der Thrombozyten, welche bei zyanotischen EMAH vermindert sind. Somit kommt es bei AHF zu quantitativen und qualitativen Störungen der Thrombozyten, wobei die qualitativen Störungen nur bedingt interpretierbar sind. Auch die generelle Aggregationsfähigkeit ist vermindert.

Unsere Ergebnisse können für therapeutische Entscheidungen zur Antikoagulation oder thrombozyteninhibierenden Therapie bei EMAH relevant sein.

## 5. Zusammenfassung

Der Anteil von Erwachsenen mit angeborenen, zyanotischen Herzfehlern hat über die letzten Jahre kontinuierlich zugenommen. Bei ihnen sind hämatologisch-rheologische Aberrationen komplex und multifaktorieller Genese (Tempe and Virmani 2002, Kaemmerer, Mebus et al. 2010).

Mit der Thrombelastographie nach dem ROTEM®-Verfahren und der Impedanzaggregometrie mit dem Multiplate®-Analyzer konnte nun die Gerinnungsdiagnostik bei EMAH erweitert werden.

Bei zyanotischen Patienten war in der ROTEM®-Analyse die Gerinnungszeit verlängert und die Ausbildung des Gerinnsels vermindert. Zudem konnte eine verminderte Fibrinogenaktivität detektiert werden.

Das Ausmaß der Gerinnungsaberration in den ROTEM®-Untersuchungen korrelierte positiv mit dem Hämatokrit. Dies ist bei zyanotischen EMAH von klinischer Relevanz, da sie aufgrund der sekundären Erythrozytose unter erhöhten Hämatokritwerten leiden (Horigome, Hiramatsu et al. 2002, Bhardwaj, Malhotra et al. 2017).

Zudem zeigte sich in der ROTEM®-Analyse, dass eine verminderte Thrombozytenzahl ebenfalls mit einer verzögerten Gerinnselbildung einhergeht. Bei zyanotischen EMAH korrelierten in der vorliegenden Studie Hämatokrit und Thrombozytenzahl invers miteinander.

Bei zyanotischen Patienten und sekundärer Erythrozytose ist die Thrombozytenzahl vermindert (Lill, Perloff et al. 2006). Nun wurde neben der quantitativen Aberration bei Thrombozyten durch die Multiplate®-Analyse auch eine Störung auf Ebene der Thrombozytenfunktion nachgewiesen. Zudem zeigte sich eine positive Korrelation zwischen dem Ausmaß der Thrombozytenfunktionsstörung und dem erhöhten Hämatokrit bei zyanotischen EMAH. Je geringer die Thrombozytenzahl war, desto ausgeprägter war die Reduktion des Signals in der Impedanzaggregometrie. Zu beachten

ist jedoch, dass bei Thrombozytenzahlen außerhalb des Referenzbereichs von  $150 \times 10^9/l$  bis  $600 \times 10^9/l$  die Multiplate®-Analyse relevant von der Anzahl an Thrombozyten beeinflusst (Femia, Scavone et al. 2013) wird. Da bei den zyanotischen EMAH die mittlere Thrombozytenzahl  $130 \times 10^9/l$  betrug, ist dieser Aspekt in der Beurteilung zu berücksichtigen.

Unsere Ergebnisse liefern einen Beitrag zu den hämatologisch-rheologischen Aberrationen bei Erwachsenen mit angeborenen Herzfehlern, um das Gerinnungsmanagement bei dieser Patientengruppe weiter zu optimieren und so das erhöhte Blutungsrisiko zu minimieren. Für die vermehrten thromboembolischen Ereignisse sahen wir in unseren Untersuchungen keinen Zusammenhang. Weitere Studien auf diesem Gebiet scheinen hierzu notwendig.

## 6. Abbildungsverzeichnis

**Abbildung 1:** Unkorrigierte Fallot'sche Tetralogie, als Beispiel des häufigsten angeborenen zyanotischen Herzfehlers (Brickner, Hillis, & Lange, 2000).

**Abbildung 2:** Patient mit zentraler Zyanose: ausgeprägte Lippenzyanose, Pseudokonjunktivitis, Quelle: Deutsches Herzzentrum München

**Abbildung 3:** Peripherer Blutausstrich eines zyanotischen Patienten mit sekundärer Erythrocytose, Quelle: Deutsches Herzzentrum München

**Abbildung 4:** Patient mit zentraler Zyanose: Trommelschlegelakren und Uhrglasnägel, Quelle: Deutsches Herzzentrum München

**Abbildung 5:** ROTEM-Verfahren nach <https://www.rotem.de/en/methodology/thromboelastometry/> abgerufen am 30.09.2018

**Abbildung 6:** Parameter der ROTEM®-Analyse

**Abbildung 7:** Aktivierungswege an Thrombozyten nach <https://www.roche.de/diagnostics/systeme/gerinnungsdiagnostik/multiplate-analyzer.html#Merkmale> abgerufen am 30.09.2018

**Abbildung 8:** ROTEM®-Ergebnisse bei zyanotischen (Fallgruppe) gegenüber azyanotischen (Kontrolle) EMAH

**Abbildung 9:** Multiplate®-Ergebnisse bei zyanotischen (Fallgruppe) gegenüber azyanotischen (Kontrolle) EMAH

**Abbildung 10:** ROTEM®-Analyse bei Eisenmenger-Syndrom

**Abbildung 11:** Multiplate®-Analyse bei Eisenmenger-Syndrom

**Abbildung 12:** ROTEM®-Analyse in Korrelation mit dem Hämatokrit

**Abbildung 13:** Multiplate®-Analyse in Korrelation mit dem Hämatokrit

**Abbildung 14:** ROTEM®-Analyse in Korrelation mit der Thrombozytenzahl

**Abbildung 15:** Multiplate®-Analyse in Korrelation mit der Thrombozytenzahl

**Abbildung 16:** Korrelation zwischen Thrombozytenzahl und Hämatokrit

## 7. Tabellenverzeichnis

**Tabelle 1:** AHF mit vermindertem Verhältnis zwischen pulmonalem und systemischem Blutfluss ( $Q_p/Q_s < 1$ ), mit erhöhtem pulmonalem Blutfluss ( $Q_p/Q_s > 1$ ) und mit nahezu normalem pulmonalem Blutfluss

**Tabelle 2:** Klinische Untersuchungsparameter

**Tabelle 3:** Klassifikation der Herzfehler aller Studienteilnehmer

**Tabelle 4:** Ergebnisse der erweiterten Laborparameter, in Klammern je Minimum bzw. Maximum der ermittelten Werte:

**Tabelle 5:** ROTEM®-Ergebnisse bei zyanotischen gegenüber azyanotischen EMAH

**Tabelle 6:** Multiplate®-Ergebnisse bei zyanotischen (Fallgruppe) gegenüber azyanotischen (Kontrolle) EMAH

**Tabelle 7:** ROTEM®-Analyse bei Eisenmenger-Syndrom

**Tabelle 8:** Multiplate®-Analyse bei Eisenmenger-Syndrom

**Tabelle 9:** ROTEM®- und Multiplate®-Analyse bei zyanotischen EMAH unter Vitamin-K-Antagonisten

**Tabelle 10:** Multiplate®-Analyse bei zyanotischen EMAH unter Therapie mit Acetylsalicylsäure

**Tabelle 11:** ROTEM®-Analyse in Korrelation mit dem Hämatokrit

**Tabelle 12:** Multiplate®-Analyse in Korrelation mit dem Hämatokrit

**Tabelle 13:** ROTEM®-Analyse in Korrelation mit der Thrombozytenzahl

**Tabelle 14:** Multiplate®-Analyse in Korrelation mit der Thrombozytenzahl

## 8. Literaturverzeichnis

- Avidan, M. S., E. L. Alcock, J. Da Fonseca, J. Ponte, J. B. Desai, G. J. Despotis and B. J. Hunt (2004). "Comparison of structured use of routine laboratory tests or near-patient assessment with clinical judgement in the management of bleeding after cardiac surgery." *Br J Anaesth* **92**(2): 178-186.
- Bhardwaj, V., P. Malhotra, S. Hasija, U. K. Chowdury and N. Pangasa (2017). "Coagulopathies in cyanotic cardiac patients: An analysis with three point - of - care testing devices (Thromboelastography, rotational thromboelastometry, and sonoclot analyzer)." *Ann Card Anaesth* **20**(2): 212-218.
- Braun S., M. S., Eicken A., Hager A., Hess J., Kaemmerer H. (2008). "43rd Annual AEPC Meeting 18th Spring Meeting of ECHSA Palazzo del Casinò, Venice Lido (Italy), 21–24 May, 2008." *Cardiology in the Young* **18**(S1): 1-106.
- Braunwald, E. (2001). *2 : Heart disease : a textbook of cardiovascular medicine*. Philadelphia [u.a.], Philadelphia [u.a.]: Saunders.
- Brickner, M. E., L. D. Hillis and R. A. Lange (2000). "Congenital heart disease in adults. Second of two parts." *N Engl J Med* **342**(5): 334-342.
- Broberg, C. S., M. Ujita, S. Prasad, W. Li, M. Rubens, B. E. Bax, S. J. Davidson, B. Bouzas, J. S. Gibbs, J. Burman and M. A. Gatzoulis (2007). "Pulmonary arterial thrombosis in Eisenmenger syndrome is associated with biventricular dysfunction and decreased pulmonary flow velocity." *J Am Coll Cardiol* **50**(7): 634-642.
- Calatzis, A. (2007). Vollblutverfahren zur Erfassung der primären Hämostase (Analysis of primary hemostasis in whole blood). *J Lab Med* 2007.
- Calatzis, A., M. Spannagl and R. Loreth (2006). Multiplate platelet function analysis - application and interpretation. *Dynabite GmbH*. München.
- Cardinal, D. C. and R. J. Flower (1980). "The electronic aggregometer: a novel device for assessing platelet behavior in blood." *J Pharmacol Methods* **3**(2): 135-158.
- Coakley, M., K. Reddy, I. Mackie and S. Mallett (2006). "Transfusion triggers in orthotopic liver transplantation: a comparison of the thromboelastometry analyzer, the thromboelastogram, and conventional coagulation tests." *J Cardiothorac Vasc Anesth* **20**(4): 548-553.
- Collyer, T. C., D. J. Gray, R. Sandhu, J. Berridge and G. Lyons (2009). "Assessment of platelet inhibition secondary to clopidogrel and aspirin therapy in preoperative acute surgical patients measured by Thrombelastography Platelet Mapping." *Br J Anaesth* **102**(4): 492-498.
- Davidson, S. J., D. McGrowder, M. Roughton and A. A. Kelleher (2008). "Can ROTEM thromboelastometry predict postoperative bleeding after cardiac surgery?" *J Cardiothorac Vasc Anesth* **22**(5): 655-661.
- de, P. S. S. R., N. Y. Maeda, S. P. Bydlowski and A. A. Lopes (2005). "Markers of endothelial dysfunction and severity of hypoxaemia in the Eisenmenger syndrome." *Cardiol Young* **15**(5): 504-513.
- Dimopoulos, K., G. P. Diller, E. Koltsida, A. Pijuan-Domenech, S. A. Papadopoulou, S. V. Babu-Narayan, T. V. Salukhe, M. F. Piepoli, P. A. Poole-Wilson, N. Best, D. P. Francis and M. A. Gatzoulis (2008). "Prevalence, predictors, and prognostic value of renal dysfunction in adults with congenital heart disease." *Circulation* **117**(18): 2320-2328.
- Femia, E. A., M. Scavone, A. Lecchi and M. Cattaneo (2013). "Effect of platelet count on platelet aggregation measured with impedance aggregometry (Multiplate analyzer) and with light transmission aggregometry." *J Thromb Haemost* **11**(12): 2193-2196.
- Fischbein, C. A., A. Rosenthal, E. G. Fischer, A. S. Nadas and K. Welch (1974). "Risk factors of brain abscess in patients with congenital heart disease." *Am J Cardiol* **34**(1): 97-102.
- Gachet, C. (2001). "Identification, characterization, and inhibition of the platelet ADP receptors." *Int J Hematol* **74**(4): 375-381.

- Ghasemi, A., M. Horri and Y. Salahshour (2014). Coagulation abnormalities in pediatric patients with congenital heart disease: A literature review. *International Journal of Pediatrics* **2** (2.2): 141-143.
- Haas, T., N. Spielmann and M. Cushing (2015). "Impact of incorrect filling of citrate blood sampling tubes on thromboelastometry." *Scand J Clin Lab Invest* **75**(8): 717-719.
- Hardy, J. F., P. de Moerloose and C. M. Samama (2006). "Massive transfusion and coagulopathy: pathophysiology and implications for clinical management." *Can J Anaesth* **53**(6 Suppl): S40-58.
- Hartert, H. (1948). "Blutgerinnungsstudien mit der Thrombelastographie, einem neuen Untersuchungsverfahren." *Klinische Wochenschrift* **26**(37): 577-583.
- Hartmann, M., C. Sucker, O. Boehm, A. Koch, S. Loer and K. Zacharowski (2006). "Effects of cardiac surgery on hemostasis." *Transfus Med Rev* **20**(3): 230-241.
- Henriksson, P., G. Varendh and N. R. Lundstrom (1979). "Haemostatic defects in cyanotic congenital heart disease." *Br Heart J* **41**(1): 23-27.
- Hoffmann, A., P. Chockalingam, O. H. Balint, A. Dadashev, K. Dimopoulos, R. Engel, M. Schmid, M. Schwerzmann, M. A. Gatzoulis, B. Mulder and E. Oechslin (2010). "Cerebrovascular accidents in adult patients with congenital heart disease." *Heart* **96**(15): 1223-1226.
- Horigome, H., Y. Hiramatsu, O. Shigeta, T. Nagasawa and A. Matsui (2002). "Overproduction of platelet microparticles in cyanotic congenital heart disease with polycythemia." *J Am Coll Cardiol* **39**(6): 1072-1077.
- Ismail, E. A. and O. I. Youssef (2013). "Platelet-derived microparticles and platelet function profile in children with congenital heart disease." *Clin Appl Thromb Hemost* **19**(4): 424-432.
- Jensen, A. S., P. I. Johansson, L. Bochsén, L. Idorn, K. E. Sørensen, U. Thilen, E. Nagy, E. Furenas and L. Sondergaard (2013). "Fibrinogen function is impaired in whole blood from patients with cyanotic congenital heart disease." *Int J Cardiol* **167**(5): 2210-2214.
- Jensen, A. S., P. I. Johansson, L. Idorn, K. E. Sørensen, U. Thilen, E. Nagy, E. Furenas and L. Sondergaard (2013). "The haematocrit--an important factor causing impaired haemostasis in patients with cyanotic congenital heart disease." *Int J Cardiol* **167**(4): 1317-1321.
- Kaemmerer, H., S. Fratz, S. L. Braun, K. Koelling, A. Eicken, S. Brodherr-Heberlein, K. Pietrzik and J. Hess (2004). "Erythrocyte indexes, iron metabolism, and hyperhomocysteinemia in adults with cyanotic congenital cardiac disease." *Am J Cardiol* **94**(6): 825-828.
- Kaemmerer, H., S. Mebus, I. Schulze-Neick, A. Eicken, P. T. Trindade, A. Hager, E. Oechslin, K. Niwa, I. Lang and J. Hess (2010). "The adult patient with Eisenmenger syndrome: a medical update after Dana Point part I: epidemiology, clinical aspects and diagnostic options." *Curr Cardiol Rev* **6**(4): 343-355.
- Kettner, S. C., O. P. Panzer, S. A. Kozek, F. A. Seibt, B. Stoiser, J. Kofler, G. J. Locker and M. Zimpfer (1999). "Use of abciximab-modified thrombelastography in patients undergoing cardiac surgery." *Anesth Analg* **89**(3): 580-584.
- Kim, E., H. S. Shim, W. H. Kim, S. Y. Lee, S. K. Park, J. H. Yang, T. G. Jun and C. S. Kim (2016). "Predictive Value of Intraoperative Thromboelastometry for the Risk of Perioperative Excessive Blood Loss in Infants and Children Undergoing Congenital Cardiac Surgery: A Retrospective Analysis." *J Cardiothorac Vasc Anesth* **30**(5): 1172-1178.
- Lang, T., K. Johanning, H. Metzler, S. Piepenbrock, C. Solomon, N. Rahe-Meyer and K. A. Tanaka (2009). "The effects of fibrinogen levels on thromboelastometric variables in the presence of thrombocytopenia." *Anesth Analg* **108**(3): 751-758.
- Lang, T., W. Toller, M. Gutl, E. Mahla, H. Metzler, P. Rehak, W. Marz and G. Halwachs-Baumann (2004). "Different effects of abciximab and cytochalasin D on clot strength in thrombelastography." *J Thromb Haemost* **2**(1): 147-153.
- Lill, M. C., J. K. Perloff and J. S. Child (2006). "Pathogenesis of thrombocytopenia in cyanotic congenital heart disease." *Am J Cardiol* **98**(2): 254-258.
- Luddington, R. J. (2005). "Thrombelastography/thromboelastometry." *Clin Lab Haematol* **27**(2): 81-90.
- Mallett, S. V. and D. J. Cox (1992). "Thrombelastography." *Br J Anaesth* **69**(3): 307-313.

- Marschner, C. B., A. T. Kristensen, E. H. Spodsberg and B. Wiinberg (2012). "Evaluation of platelet aggregometry in dogs using the Multiplate platelet analyzer: impact of anticoagulant choice and assay duration." *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)* **22**(1): 107-115.
- Mattes, M., J. Connor, S. S. Kelly and M. C. Schwartz (2016). "Lymphopenia in Patients with Single-ventricle Heart Disease after the Fontan Operation." *Congenit Heart Dis* **11**(3): 270-275.
- Maurer, H. M., C. M. McCue, J. Caul and W. J. S. Still (1972). "Impairment in Platelet Aggregation in Congenital Heart Disease." *Blood* **40**(2): 207.
- Michel-Behnke, I. (2012). "Nicht-kardiale operationen bei erwachsenen patienten mit angeborenen herzfehlern (EMAH)." *Journal fur Kardiologie* **19**(7-8): 232-239.
- Nakul-Aquarone, D., I. Sudaka-Sammarcelli, C. Ferrero-Vacher, B. Starck and J. Bayle (2003). "Evaluation of the Sysmex Xe-2100 hematology analyzer in hospital use." *J Clin Lab Anal* **17**(4): 113-123.
- Nielsen, V. G., B. T. Geary and M. S. Baird (2000). "Evaluation of the contribution of platelets to clot strength by thromboelastography in rabbits: the role of tissue factor and cytochalasin D." *Anesth Analg* **91**(1): 35-39.
- Niwa, K., J. K. Perloff, S. Kaplan, J. S. Child and P. D. Miner (1999). "Eisenmenger syndrome in adults: ventricular septal defect, truncus arteriosus, univentricular heart." *J Am Coll Cardiol* **34**(1): 223-232.
- Nürnberg, J.-H. (2006). 7 - Herz und Kreislauf. *Klinikeitfaden Pädiatrie (Siebte Ausgabe)*. S. Illing, M. Claßen, M. Albrecht et al. Munich, Urban & Fischer: 307-352.
- Oechslin, E. (2015). "Management of adults with cyanotic congenital heart disease." *Heart* **101**(6): 485-494.
- Panzer, S. and P. Jilma (2011). "Methods for testing platelet function for transfusion medicine." *Vox Sang* **101**(1): 1-9.
- Perloff, J. K. (2012). "Cyanotic congenital heart disease the coronary arterial circulation." *Curr Cardiol Rev* **8**(1): 1-5.
- Perloff, J. K., M. H. Rosove, J. S. Child and G. B. Wright (1988). "Adults with cyanotic congenital heart disease: hematologic management." *Ann Intern Med* **109**(5): 406-413.
- Petricevic, M., B. Biocina, D. Milicic, S. Konosic, L. Svetina, A. Lekic, B. Zdilar, I. Burcar, M. Milosevic, R. Brahimaj, J. Samardzic and H. Gasparovic (2013). "Bleeding risk assessment using whole blood impedance aggregometry and rotational thromboelastometry in patients following cardiac surgery." *J Thromb Thrombolysis* **36**(4): 514-526.
- Peyrou, V., J. C. Lormeau, J. P. Herault, C. Gaich, A. M. Pfliegger and J. M. Herbert (1999). "Contribution of erythrocytes to thrombin generation in whole blood." *Thromb Haemost* **81**(3): 400-406.
- Rahe-Meyer, N., C. Solomon, M. Winterhalter, S. Piepenbrock, K. Tanaka, A. Haverich and M. Pichlmaier (2009). "Thromboelastometry-guided administration of fibrinogen concentrate for the treatment of excessive intraoperative bleeding in thoracoabdominal aortic aneurysm surgery." *J Thorac Cardiovasc Surg* **138**(3): 694-702.
- Rahe-Meyer, N., M. Winterhalter, A. Boden, C. Froemke, S. Piepenbrock, A. Calatzis and C. Solomon (2009). "Platelet concentrates transfusion in cardiac surgery and platelet function assessment by multiple electrode aggregometry." *Acta Anaesthesiol Scand* **53**(2): 168-175.
- Ranucci, M., E. Baryshnikova, G. Soro, A. Ballotta, D. De Benedetti and D. Conti (2011). "Multiple electrode whole-blood aggregometry and bleeding in cardiac surgery patients receiving thienopyridines." *Ann Thorac Surg* **91**(1): 123-129.
- Ranucci, M., E. F. T. S. Baryshnikova and G. Clinical Outcome Research Score (2017). "The interaction between preoperative platelet count and function and its relationship with postoperative bleeding in cardiac surgery." *Platelets* **28**(8): 794-798.
- Replogle, R. L., H. J. Meiselman and E. W. Merrill (1967). "Clinical implications of blood rheology studies." *Circulation* **36**(1): 148-160.

- Romlin, B. S., F. Soderlund, H. Wahlander, B. Nilsson, F. Baghaei and A. Jeppsson (2014). "Platelet count and function in paediatric cardiac surgery: a prospective observational study." *Br J Anaesth* **113**(5): 847-854.
- Rosove, M. H., J. K. Perloff, W. G. Hocking, J. S. Child, M. M. Canobbio and D. J. Skorton (1986). "Chronic hypoxaemia and decompensated erythrocytosis in cyanotic congenital heart disease." *Lancet* **2**(8502): 313-315.
- Roth, B. (2005). Kapitel 10 - Zyanose. *Differentialdiagnose Pädiatrie (Zweite Ausgabe)*. D. Michalk, E. Schönau, W. Ahrens et al. Munich, Urban & Fischer: 77-82.
- Schmaltz, A. A. and U. M. Bauer (2013). "[Adults with congenital heart disease: treatment and medical problems]." *Herz* **38**(6): 639-651; quiz 652-634.
- Schmidt, D. E., M. Bruzelius, A. Majeed, J. Odeberg, M. Holmstrom and A. Agren (2017). "Whole blood ristocetin-activated platelet impedance aggregometry (Multiplate) for the rapid detection of Von Willebrand disease." *Thromb Haemost* **117**(8): 1528-1533.
- Schochl, H., W. Voelckel, A. Grassetto and C. J. Schlimp (2013). "Practical application of point-of-care coagulation testing to guide treatment decisions in trauma." *J Trauma Acute Care Surg* **74**(6): 1587-1598.
- Schwartz, M. C., L. M. Sullivan, A. C. Glatz, E. Rand, P. Russo, D. J. Goldberg, J. J. Rome and M. S. Cohen (2013). "Portal and sinusoidal fibrosis are common on liver biopsy after Fontan surgery." *Pediatr Cardiol* **34**(1): 135-142.
- Scott, J. P., R. A. Niebler, E. A. E. Stuth, D. K. Newman, J. S. Tweddell, R. S. Bercovitz, D. W. Benson, R. Cole, P. M. Simpson, K. Yan and R. K. Woods (2018). "Rotational Thromboelastometry Rapidly Predicts Thrombocytopenia and Hypofibrinogenemia During Neonatal Cardiopulmonary Bypass." *World J Pediatr Congenit Heart Surg* **9**(4): 424-433.
- Shiina, Y., T. Toyoda, Y. Kawasoe, S. Tateno, T. Shirai, K. Matsuo, Y. Mizuno, T. Ai and K. Niwa (2011). "The prevalence and risk factors for cholelithiasis and asymptomatic gallstones in adults with congenital heart disease." *Int J Cardiol* **152**(2): 171-176.
- Shore-Lesserson, L., H. E. Manspeizer, M. DePerio, S. Francis, F. Vela-Cantos and M. A. Ergin (1999). "Thromboelastography-guided transfusion algorithm reduces transfusions in complex cardiac surgery." *Anesth Analg* **88**(2): 312-319.
- Sibbing, D., S. Braun, T. Morath, J. Mehilli, W. Vogt, A. Schomig, A. Kastrati and N. von Beckerath (2009). "Platelet reactivity after clopidogrel treatment assessed with point-of-care analysis and early drug-eluting stent thrombosis." *J Am Coll Cardiol* **53**(10): 849-856.
- Siller-Matula, J. M., G. Christ, I. M. Lang, G. Delle-Karth, K. Huber and B. Jilma (2010). "Multiple electrode aggregometry predicts stent thrombosis better than the vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation assay." *J Thromb Haemost* **8**(2): 351-359.
- Silveira, L. H., M. Martinez-Lavin, C. Pineda, M. C. Fonseca, C. Navarro and A. Nava (2000). "Vascular endothelial growth factor and hypertrophic osteoarthropathy." *Clin Exp Rheumatol* **18**(1): 57-62.
- Silversides, C. K., J. T. Granton, E. Konen, M. A. Hart, G. D. Webb and J. Therrien (2003). "Pulmonary thrombosis in adults with Eisenmenger syndrome." *Journal of the American College of Cardiology* **42**(11): 1982-1987.
- Solomon, C., H. Schochl, M. Ranucci and C. J. Schlimp (2015). "Can the Viscoelastic Parameter alpha-Angle Distinguish Fibrinogen from Platelet Deficiency and Guide Fibrinogen Supplementation?" *Anesth Analg* **121**(2): 289-301.
- Solomon, C., B. Sorensen, G. Hochleitner, J. Kashuk, M. Ranucci and H. Schochl (2012). "Comparison of whole blood fibrin-based clot tests in thrombelastography and thromboelastometry." *Anesth Analg* **114**(4): 721-730.
- Spiel, A. O., F. B. Mayr, C. Firbas, P. Quehenberger and B. Jilma (2006). "Validation of rotation thrombelastography in a model of systemic activation of fibrinolysis and coagulation in humans." *J Thromb Haemost* **4**(2): 411-416.
- Stissing, T., N. P. Dridi, S. R. Ostrowski, L. Bochsén and P. I. Johansson (2011). "The influence of low platelet count on whole blood aggregometry assessed by Multiplate." *Clin Appl Thromb Hemost* **17**(6): E211-217.

- Tempe, D. K. and S. Virmani (2002). "Coagulation abnormalities in patients with cyanotic congenital heart disease." *J Cardiothorac Vasc Anesth* **16**(6): 752-765.
- Toth, O., A. Calatzis, S. Penz, H. Losonczy and W. Siess (2006). "Multiple electrode aggregometry: a new device to measure platelet aggregation in whole blood." *Thromb Haemost* **96**(6): 781-788.
- Vijayalakshmi, I. B. (2013). *A Comprehensive Approach to Congenital Heart Diseases*, Jaypee Brothers Medical Publishers Pvt Ltd
- von Pape, K. W., M. Dzijan-Horn, J. Bohner, M. Spannagl, H. Weisser and A. Calatzis (2007). "[Control of aspirin effect in chronic cardiovascular patients using two whole blood platelet function assays. PFA-100 and Multiplate]." *Hamostaseologie* **27**(3): 155-160; quiz 161-152.
- von Rappard, S., C. Hinnen, R. Lussmann, M. Rechsteiner and W. Korte (2017). "Factor XIII Deficiency and Thrombocytopenia Are Frequent Modulators of Postoperative Clot Firmness in a Surgical Intensive Care Unit." *Transfus Med Hemother* **44**(2): 85-92.
- Waldman, J. D., E. E. Czapek, M. H. Paul, A. D. Schwartz, D. L. Levin and S. Schindler (1975). "Shortened platelet survival in cyanotic heart disease." *J Pediatr* **87**(1): 77-79.
- Weber, C. F., K. Gorlinger, D. Meininger, E. Herrmann, T. Bingold, A. Moritz, L. H. Cohn and K. Zacharowski (2012). "Point-of-care testing: a prospective, randomized clinical trial of efficacy in coagulopathic cardiac surgery patients." *Anesthesiology* **117**(3): 531-547.
- Wedemeyer, A. L., J. R. Edson and W. Krivit (1972). "Coagulation in cyanotic congenital heart disease." *Am J Dis Child* **124**(5): 656-660.
- Westbury, S. K., K. Lee, C. Reilly-Stitt, R. Tulloh and A. D. Mumford (2013). "High haematocrit in cyanotic congenital heart disease affects how fibrinogen activity is determined by rotational thromboelastometry." *Thromb Res* **132**(2): e145-151.
- Wren, C. and J. J. O'Sullivan (2001). "Survival with congenital heart disease and need for follow up in adult life." *Heart* **85**(4): 438-443.
- Wurtz, M., A. M. Hvas, K. H. Christensen, P. Rubak, S. D. Kristensen and E. L. Grove (2014). "Rapid evaluation of platelet function using the Multiplate(R) Analyzer." *Platelets* **25**(8): 628-633.

## Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Klinikdirektor Prof. Dr. med. Peter Ewert, der die Durchführung dieser Studie in der Klinik für angeborene Herzfehler und Kinderkardiologie genehmigt hat.

Bei meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Dr. med. Harald Kaemmerer darf ich mich sehr herzlich für die Überlassung dieses faszinierenden Themas bedanken sowie die stets geduldige und freundliche Betreuung und Beratung in allen Phasen dieser Arbeit.

Weiterhin danke ich Frau Claudia Pujol Salvador und Frau Dr. med. Siegrun Mebus für ihre begeisternde Motivation und ihre engagierte Unterstützung während der gesamten Studie.

Herrn Institutsdirektor Prof. Dr. med. Stefan Holdenrieder und Herrn Dr. med. Franz Röschenthaler vom Institut für Laboratoriumsmedizin und dessen ehemaligen Leiter Herrn Dr. med. Siegmund Braun danke ich für die Durchführung der Laboruntersuchungen in ihrem Institut und die Hilfe bei der Evaluation der statistischen Analyse und der Befundinterpretation.

Den Schwestern der Ambulanz für Erwachsene mit angeborenen Herzfehlern gilt mein Dank, da ich stets auf ihre tatkräftige Unterstützung bei der Erhebung der Daten vertrauen durfte.

Dem Team um Herrn Prof. Dr. Kurt Ulm vom Institut für Medizinische Statistik und Epidemiologie danke ich für sein Mentoring bei der statistischen Methodik und den Auswertungen.

Nicht zuletzt gilt mein besonderer Dank meiner Frau Sarah und meiner Familie, die mich stets ermutigten, diese Arbeit voranzubringen und ohne deren liebevolle Unterstützung sie erst gar nicht möglich geworden wäre.

## Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre an Eides statt, dass ich die bei der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zur Promotionsprüfung vorgelegte Arbeit mit dem Titel „Hämatologisch-rheologische Aberrationen bei zyanotischen Herzfehlern“ in der Klinik für Kinderkardiologie und angeborene Herzfehler des Deutschen Herzzentrums München der Technischen Universität München (Direktor Prof. Dr. med. Peter Ewert) unter der Anleitung und Betreuung durch Herrn Prof. Dr. Dr. med. Harald Kaemmerer ohne sonstige Hilfe erstellt und bei der Abfassung nur die gemäß § 6 Ab. 6 und 7 Satz 2 angebotenen Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe keine Organisation eingeschaltet, die gegen Entgelt Betreuerinnen und Betreuer für die Anfertigung von Dissertationen sucht, oder die mir obliegenden Pflichten hinsichtlich der Prüfungsleistungen für mich ganz oder teilweise erledigt.

Ich habe die Dissertation in dieser oder ähnlicher Form in keinem anderen Prüfungsverfahren als Prüfungsleistung vorgelegt.

Ich habe den angestrebten Doktorgrad noch nicht erworben und bin nicht in einem früheren Promotionsverfahren für den angestrebten Doktorgrad endgültig gescheitert.

Die öffentlich zugängliche Promotionsordnung der TUM ist mir bekannt, insbesondere habe ich die Bedeutung von § 28 (Nichtigkeit der Promotion) und § 29 (Entzug des Doktorgrades) zur Kenntnis genommen. Ich bin mir der Konsequenzen einer falschen Eidesstattlichen Erklärung bewusst.

Mit der Aufnahme meiner personenbezogenen Daten in die Alumni-Datei bei der TUM bin ich einverstanden.

Diedorf, den 11.12.2019

---

Unterschrift