



Fakultät für Medizin

Klinik für Anästhesiologie

Retikuläre Thrombozyten als Biomarker für schwere kardiovaskuläre Komplikationen nach nicht-herzchirurgischen Operationen

Clemens Langgartner

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

Prüfer der Dissertation:

1. apl. Prof. Dr. Bettina E. Jungwirth

2. Prof. Dr. Karl-Ludwig Laugwitz

Die Dissertation wurde am 11.4.2018 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 20.2.2019 angenommen.

# INHALTSVERZEICHNIS

INHALTSVERZEICHNIS.....	1
TABELLENVERZEICHNIS.....	3
ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	4
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	5

## Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG.....	8
1.1	Kardiovaskuläre, zerebrovaskuläre und thromboembolische Komplikationen nach nicht-herzchirurgischen Operationen .....	8
1.1.1	Epidemiologie .....	8
1.1.2	Kardiale Komplikationen nach nicht-herzchirurgischen Operationen .....	9
1.1.3	Zerebrovaskuläre Komplikationen nach nicht-herzchirurgischen Operationen ....	9
1.1.4	Thromboembolische Komplikationen nach nicht-herzchirurgischen Operationen	10
1.1.5	Risikoeinschätzung bei nicht-herzchirurgischen Operationen .....	11
1.1.6	Risiko Indizes .....	12
1.1.7	Bestimmung kardialer Biomarker .....	16
1.2	Retikuläre Thrombozyten als Biomarker für kardiovaskuläre, zerebrovaskuläre und thromboembolische Komplikationen nach nicht-herzchirurgischen Operationen .....	18
1.2.1	Physiologie der Thrombozyten: .....	18
1.2.2	Physiologie der retikulären Thrombozyten .....	18
1.2.3	Bisheriger klinischer Nutzen retikulärer Thrombozyten: .....	20
1.2.4	Bisherige Forschung zu retikulären Thrombozyten: .....	20
1.2.5	Zusammenhang zwischen retikulären Thrombozyten und kardio- bzw. zerebrovaskulären Erkrankungen: .....	21
1.3	Zusammenfassung .....	23
2	METHODEN .....	24
2.1	Studiendesign: .....	24
2.2	Probanden:.....	25
2.3	Einschlusskriterien: .....	25
2.4	Ausschlusskriterien: .....	26
2.5	Endpunkte: .....	26
2.6	Blutabnahmen: .....	28

2.7	Blutparameter:.....	28
2.8	Messung von IPF und H-IPF.....	29
2.9	Datensammlung:.....	31
2.9.1	Präoperative Daten:.....	31
2.9.2	Intraoperativer anästhesiologischer Verlauf:.....	33
2.9.3	Postoperativer Verlauf im Krankenhaus vor Entlassung: .....	34
2.10	Statistik.....	34
3	ERGEBNISSE.....	37
3.1	Teilnehmende Probanden:.....	37
3.2	Studienpopulation und Vorerkrankungen: .....	38
3.3	Art der Operationen und anästhesiologischer Verlauf .....	40
3.4	Art der Anästhesie:.....	41
3.5	Laborparameter: .....	42
3.6	Aufgetretene modMACE .....	44
3.7	Assoziation zwischen IPF und modMACE:.....	45
3.8	Assoziation zwischen H-IPF und modMACE: .....	47
3.9	Bestimmung eines Cut-off Wertes für IPF:.....	49
3.10	Univariate Analyse.....	50
3.11	Multivariate Cox Regressionsanalyse .....	51
3.12	CART .....	52
4	DISKUSSION.....	53
4.1	Inzidenz von modMACE .....	53
4.2	Univariate Analyse.....	54
4.3	Präoperative Risikofaktoren.....	55
4.4	Surgical Apgar Score als Ausdruck des intraoperativen Verlaufs .....	56
4.5	Troponin-T als postoperativer Risikofaktor .....	57
4.6	Assoziation zwischen modMACE und IPF.....	59
4.7	Multivariate Cox Regressionsanalyse und CART.....	59
4.8	Perioperative Blutverluste und Transfusionen als Risikofaktoren .....	60
4.9	Möglicher Nutzen von IPF.....	61
4.10	Mögliche Ursachen der Assoziation zwischen IPF und modMACE .....	62
4.11	Zusammenfassung.....	66
4.12	Einschränkungen der Studie:.....	66
5	ZUSAMMENFASSUNG.....	67
6	LITERATURVERZEICHNIS .....	69

# Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Operation und OP-Risiko .....	24
Tabelle 2: Demographische Daten und Vorerkrankungen; <i>BMI=body mass index, COPD=chronic obstructive pulmonary disease, ASA=American Society of Anesthesiologists physical status</i> .....	39
Tabelle 3: Anästhesiearten .....	41
Tabelle 4: Blutparameter Hämoglobin in g/dl, Thrombozyten in Tsd/ $\mu$ l, IPF/H-IPF als % der Gesamtthrombozyten .....	43
Tabelle 5: Aufgetretene modMACE .....	44
Tabelle 6: IPF bei Patienten mit und ohne modMACE.....	45
Tabelle 7: H-IPF bei Patienten mit und ohne modMACE .....	47
Tabelle 8: Risikofaktoren bei Patienten mit und ohne modMACE: Categoriale Variablen sind als Zahl und Prozentsatz angegeben, kontinuierliche Variablen als Mittel $\pm$ Standardabweichung oder als Median mit Interquartilsweiten. <i>BMI = body mass index, ASA = American Society of Anesthesiologists, AWR = Aufwachraum, modMACE= modified major adverse cardiac or cerebrovascular event</i> .....	50

# Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Scattergramm IPF mittels Durchflusszytometrie (Sysmex Herstellerbroschüre) .	30
Abbildung 2: Flowchart Patientenrekrutierung.....	37
Abbildung 3: Säulendiagramm zur Verteilung der OP-Arten.....	40
Abbildung 4: Säulendiagramm der Arten der Allgemeinanästhesie .....	42
Abbildung 5: Boxplot zu IPF bei Pat. mit und ohne modMACE gemessen präoperativ, im Aufwachraum und 24-72h postoperativ; ein generelles lineares Modell zeigte einen relevanten Anstieg von IPF über die Zeit bei allen Patienten ( $p < 0.001$ ). Der Effekt trat bei Patienten mit modMACE verstärkt auf. IPF war in Patienten mit modMACE signifikant erhöht ( $p = 0.016$ ). IPF-Werte sind logarithmisch dargestellt,. P-Werte in der Abbildung repräsentieren den posthoc Vergleich zum jeweiligen Zeitpunkt der Messung, <i>IPF = immature platelet fraction</i> .....	46
Abbildung 6: Boxplot zu H-IPF mit und ohne modMACE gemessen präoperativ, im Aufwachraum und 24-72h postoperativ; Boxplot in blau repräsentiert H-IPF bei Patienten ohne modMACE, Boxplot in rot repräsentiert H-IPF bei Patienten mit modMACE .....	48
Abbildung 7: Chi-Quadrat Kurve von IPF zur Ermittlung des IPF-Wertes mit der stärksten Trennschärfe; <i>Als ideale Abgrenzung wurde der IPF-Wert erachtet, der die Studienteilnehmer in zwei Gruppen teilt, bei denen der Log-Rank Vergleich das höchste Chi-Quadrat lieferte.</i> .....	49
Abbildung 8: Cox proportional hazards Modell für modMACE während des Krankenhausaufenthaltes. Nach Anpassung für relevante Risikofaktoren nach einer vorwärts schrittweisen Methode war IPF, gemessen im Aufwachraum, signifikant mit modMACE assoziiert. Im letzten Schritt verbleibende Faktoren sind mit ihrem Hazard Ratios und Konfidenzintervallen dargestellt. Ausgeschlossene Faktoren waren: Alter, präoperatives Hämoglobin, intraoperative Hypotension, und Thrombozyten im Aufwachraum. Die letzte Spalte repräsentiert die relative Auswahlhäufigkeit in 1000 bootstrap samples, in denen die Selektion der Variablen basierend auf dem Akaike Information Criterion (AIC) durchgeführt wurde, um die Robustheit der Ergebnisse darzustellen. <i>ASA = American Society of Anesthesiologists, IPF = immature platelet fraction, modMACE = modified major adverse cardiovascular events,</i> .....	51
Abbildung 9: CART-Analyse: Classification and regression tree für die Klassifikation von Patienten mit höherem oder niedrigerem Risiko für modMACE (Teilung basierend auf den Gini Kriterien): modMACE = modified major adverse cardiovascular events, ASA = American Society of Anesthesiologists, IPF = immature platelet fraction.....	52

## Abkürzungsverzeichnis

<b>Abkürzung</b>	<b>Begriff</b>
ACC	American College of Cardiologists
ACS	Acute Coronary Syndrome
AHA	American Heart Association
AWR	Aufwachraum
ASA-PS	American Society of Anesthesiologists – Physical Status
BNP	Brain Natriuretic Peptide
NT-BNP	N-Terminal-Brain Natriuretic Peptide
BMI	Body Mass Index
CART	Classification And Regression Tree
COPD	Chronic Obstructive Pulmonary Disease
COX-2	Cyclooxygenase-2
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EK	Erythrozytenkonzentrat
EKG	Elektrokardiogramm
FFP	Fresh Frozen Plasma
GPIb	Glykoprotein Ib

GPIIb/IIIa	Glykoprotein IIb/IIIa
Hb	Hämoglobin
Hkt	Hämatokrit
H-IPF	Highly-fluorescent Immature Platelet Fraction
IL-6	Interleukin 6
IPF	Immature Platelet Fraction
KHK	Koronare Herzkrankheit
Krea	Kreatinin
LE	Lungenembolie
MACE	Major Adverse Cardiovascular Events
MAP	Arterieller Mitteldruck, Mean Arterial Pressure
MICA	Myocardial Infarction and Cardiac Arrest
MKG	Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie
modMACE	modified Major Adverse Cardiac and Cerebrovascular Events
MPV	Mean Platelet Volume
mRNA	mitochondriale Ribonukleinsäure
NSQIP	National Surgical Quality Improvement Program

NSTEMI	Non ST-Elevation Myocardial Infarction
PACU	Post Anaesthesia Care Unit
PDW	Platelet Distribution Width
POSSUM	Physiological and Operative Severity Score for the Enumeration of Mortality
RCRI	Revised Cardiac Risk Index
RP	Reticulated Platelets
STEMI	ST-Elevation Myocardial Infarction
TIA	Transitorische ischämische Attacke
Thr	Thrombozyten
TIVA	Totale intravenöse Anästhesie
TVT	Tiefe Venenthrombose
VTE	Venöse Thromboembolie

# 1 EINLEITUNG

## 1.1 Kardiovaskuläre, zerebrovaskuläre und thromboembolische Komplikationen nach nicht-herzchirurgischen Operationen

### 1.1.1 Epidemiologie

Jährlich unterziehen sich mehr als 200 Millionen Erwachsene einer großen nicht-herzchirurgischen Operation (Bickler and Spiegel 2008, Weiser, Regenbogen et al. 2008). Die Anzahl dieser nimmt stetig zu (Semel, Lipsitz et al. 2012), genauso wie das durchschnittliche Alter der Patienten und das damit einhergehende Risiko für kardiovaskuläre, zerebrovaskuläre und thromboembolische Komplikationen (Rogers, Kilaru et al. 2007, Siddiqui, Coca et al. 2012). Obwohl Operationen manchmal unvermeidbar sind und ihr Nutzen offenkundig ist, können sie auch Auslöser für schwerwiegende Komplikationen wie zum Beispiel Tod durch kardiale Ursachen wie Herzinfarkt, Herzstillstand oder Herzversagen sein (Goldman, Caldera et al. 1977). So verstirbt jedes Jahr mehr als eine Million Erwachsene innerhalb der ersten dreißig Tage nach einer nicht-herzchirurgischen Operation (Weiser, Regenbogen et al. 2008, Devereaux, Chan et al. 2010). Ungefähr 10 Prozent der Patienten, die im vereinigten Königreich operiert werden, sind einem hohen Risiko für postoperative Komplikationen ausgesetzt, welche wiederum für 80% der Fälle postoperativer Mortalität verantwortlich sind (Pearse, Harrison et al. 2006, Jhanji, Thomas et al. 2008)

Sabaté et al. formte 2011 im Rahmen der AnescardioCat Studie den Begriff der major adverse cardiac and cerebrovascular events (MACCE), die anders als die bereits existierenden major adverse cardiac events auch zerebrovaskuläre Ereignisse beinhalten (Sabaté, Mases et al. 2011). MACCE stellen die häufigste Ursache für schwerwiegende

postoperative Morbidität und Mortalität dar. Abhängig von den Studienpopulationen wird eine postoperative Inzidenz zwischen 1% und 7% berichtet (Goldman, Caldera et al. 1977, Fleisher and Lehmann 1995, Lee, Marcantonio et al. 1999, Boersma, Kertai et al. 2005, Davenport, Ferraris et al. 2007, Fleisher, Beckman et al. 2007, Devereaux 2008, Kheterpal, O'Reilly et al. 2009, Sabaté, Mases et al. 2011). Die häufigsten Todesursachen, die mit MACCE in Beziehung stehen, sind kardiovaskuläre Komplikationen wie Myokardinfarkte, Arrhythmien und Schlaganfälle. (Goldman, Caldera et al. 1977, Lee, Marcantonio et al. 1999).

### **1.1.2 Kardiale Komplikationen nach nicht-herzchirurgischen Operationen**

Kardiale Komplikationen haben den größten Stellenwert. Weltweit erleiden jedes Jahr mehr als zehn Millionen Erwachsener eine schwerwiegende kardiale Komplikation innerhalb der ersten 30 Tage nach einer nicht-herzchirurgischen Operation (Botto, Alonso-Coello et al. 2014, Kristensen, Knuuti et al. 2014). In Europa wird die Inzidenz postoperativer Myokardinfarkte auf 1% und die Inzidenz postoperativen Versterbens durch kardiovaskuläre Ursachen auf 0.3% geschätzt (Poldermans, Hoeks et al. 2008). Trotz des ständigen medizinischen Fortschrittes änderten sich diese Raten in den letzten Jahren nicht (Poldermans, Hoeks et al. 2008, Poldermans, Bax et al. 2009).

### **1.1.3 Zerebrovaskuläre Komplikationen nach nicht-herzchirurgischen Operationen**

Zerebrovaskuläre Komplikationen spielen ebenfalls eine große Rolle bezüglich postoperativer Komplikationen. In einer Studie an 3500 nicht-herzchirurgischen Patienten erlitten 0.4% der Patienten einen Schlaganfall und 0.14% verstarben aufgrund zerebrovaskulärer Ursachen (Sabaté, Mases et al. 2011).

#### **1.1.4 Thromboembolische Komplikationen nach nicht-herzchirurgischen Operationen**

Zusätzlich zu MACCE stellen allerdings auch venöse Thrombosen und Lungenembolien eine weitere wichtige Ursache postoperativer Morbidität und Mortalität dar. In den USA sind venöse Thromboembolien (VTE), d.h. tiefe Venenthrombosen (TVT) und Lungenembolien (LE), alleine für 100.000 Tode jährlich verantwortlich (Streiff, Brady et al. 2014) und stellen nach Myokardinfarkt und Schlaganfall die dritthäufigste kardiovaskuläre Erkrankung dar (Hooper and Evatt 1998). Bekanntermaßen gelten neben zunehmendem Alter, malignen Erkrankungen, vorangegangenen tiefen Venenthrombosen (TVT), Störungen mit vermehrter Gerinnung, gewissen Medikamenten wie zum Beispiel östrogenhaltigen Kontrazeptiva, auch Traumata und chirurgische Eingriffe als Risikofaktoren für VTE (Wells, Anderson et al. 1997, White, Gettner et al. 2000, Gangireddy, Rectenwald et al. 2007). Ungefähr die Hälfte aller VTE sind mit Krankenhausaufenthalten bzw. Operationen assoziiert, welche nur kurze Zeit (90 Tage) zurückliegen (Heit, Silverstein et al. 2001, Spencer, Emery et al. 2009) und das Auftreten postoperativer VTE hat einen ausschlaggebenden Einfluss auf das langfristige, postoperative, Überleben (Khuri, Henderson et al. 2005). Obwohl die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer VTE ungefähr 12 Monate lang nach einer Operationen erhöht bleibt, ereignen sich die meisten innerhalb der ersten 90 postoperativen Tage (Sweetland, Green et al. 2009). Die Inzidenz symptomatischer TVT nach nicht-herzchirurgischen Eingriffen wird, abhängig von den Studienpopulationen, zwischen 0.09% und 3.4% berichtet, wobei die höchsten Inzidenzen nach kraniochirurgischen und großen orthopädischen Eingriffen nachgewiesen werden konnten (Gangireddy, Rectenwald et al. 2007, van Lier, van der Geest et al. 2012, Akpınar, Hosgun et al. 2013, Schoenfeld, Herzog et al. 2013, Schulte, O'Brien et al. 2013, Rolston, Han et al. 2014, Aziz, Patel et al. 2015, Qu, Li et al. 2015,

Wang, Sakamoto et al. 2015, Whiting, White-Dzuro et al. 2016). Bei asiatischen Populationen ist die Inzidenz von TVT generell geringer (Yeo, Junnarkar et al. 2015). Eine Lungenembolie entwickelt sich nach nicht-herzchirurgischen Eingriffen ungefähr halb so häufig wie eine TVT (Gangireddy, Rectenwald et al. 2007, Schoenfeld, Herzog et al. 2013, Schulte, O'Brien et al. 2013, Rolston, Han et al. 2014, Stromberg, Sadr-Azodi et al. 2015). VTE werden häufig als die am einfachsten zu verhindernden und mit einem Krankenhausaufenthalt assoziierten Komplikationen zitiert (Piazza and Goldhaber 2010). Es deuten mehrere Studien auf eine generell schlechte Compliance bezüglich der Durchführung einer adäquaten Thromboseprophylaxe (Heit 2005, Tooher, Middleton et al. 2005). Es zeigten sich allerdings in einer Untersuchung an 1300 Patienten nach großen orthopädischen Eingriffen trotz der strikten Durchführung einer Thromboseprophylaxe eine TVT bei 2.22% und eine LE bei 1.99%, die Mehrzahl davon innerhalb der ersten 72 postoperativen Stunden (Akpinar, Hosgun et al. 2013).

### **1.1.5 Risikoeinschätzung bei nicht-herzchirurgischen Operationen**

Die momentane Forschung zur Risikoabschätzung bei nicht-herzchirurgischen Eingriffen fokussiert sich hauptsächlich auf kardiale Komplikationen.

Zur präoperativen Abschätzung des postoperativen Risikos für das Entstehen von zerebro- und kardiovaskulären Komplikationen sowie VTE gibt es mehrere Ansätze. Es wurden verschiedene Risiko-Indices konzipiert und Biomarker untersucht.

## **1.1.6 Risiko-Indizes**

### **1.1.6.1 ASA Physical Status Classification**

Die ASA-physical status Klassifikation der American Society of Anaesthesiologist ist ein etabliertes System um den präoperativen Gesundheitszustand von Patienten einzuordnen. Die ASA Klassifikation teilt Patienten, entsprechend der Vorerkrankungen bzw. des Gesundheitszustandes in sechs Gruppen ein (American Society of Anaesthesiologists, ASA classification system, 2014):

- ASA 1: gesunder Patient
- ASA 2: Patient mit einer leichten systemischen Erkrankung
- ASA 3: Patient mit einer schweren systemischen Erkrankung
- ASA 4: Patient mit einer schweren, konstant lebensbedrohlichen, Erkrankung
- ASA 5: Ein moribunder Patient, der vermutlich ohne Operation nicht überlebt
- ASA 6: Ein nachgewiesenen hirntoter Patient, dessen Organe gespendet werden

Eine hochsignifikante Assoziation zwischen steigendem ASA Physical Status (ASA PS) und zunehmender postoperativer Mortalität bzw. postoperativen Komplikationen konnte sowohl in historischen als auch in kontemporären Kohorten konsistent nachgewiesen werden (Sabaté, Mases et al. 2011, Hackett, De Oliveira et al. 2015, Hopkins, Raghunathan et al. 2016).

### **1.1.6.2 Revised Cardiac Risk Index**

Der Revised Cardiac Risk Index (RCRI) (Lee, Marcantonio et al. 1999) und der NSQIP MICA (National Surgical Quality Improvement Program Myocardial Infarction and

Cardiac Arrest) Risk Index (Gupta, Gupta et al. 2011) stellen zwei häufig verwendete Risiko-Indizes für das postoperative kardiale Risiko dar, die in den Richtlinien vieler Fachgesellschaften befürwortet werden (Lee, Marcantonio et al. 1999, Gupta, Gupta et al. 2011, Fleisher, Fleischmann et al. 2014, Kristensen, Knuuti et al. 2014, Devereaux and Sessler 2015). Der am besten validierte Index ist der RCRI (Lee, Marcantonio et al. 1999, Ford, Beattie et al. 2010). Er setzt sich aus den folgenden sechs Risikofaktoren zusammen:

- Operation mit hohem Risiko (laut Definition der American Heart Association)
- koronare Herzkrankheit (KHK)
- insulinpflichtiger Diabetes
- präoperatives Serum-Kreatinin  $>2.0$  mg/dl
- kongestives Herzversagen in der Krankengeschichte
- zerebrovaskuläre Erkrankung in der Krankengeschichte

Der RCRI ist einfach zu verwenden und benötigt anders als der NSQIP MICA Risk Index keinen Risiko-Rechner. Allerdings klärt er nicht über das postoperative Risiko bei Notfallpatienten auf (Devereaux and Sessler 2015). Weiterhin liegen die ursprünglichen Risikoabschätzungen 50% unter den Raten an aufgetretenen Ereignissen in jüngeren Kohortenstudien (Devereaux, Bradley et al. 2011, Davis, Tait et al. 2013).

### 1.1.6.3 NSQIP MICA Risk Index

Der NSQIP MICA Risk Index zeigte in einer Studie eine höhere Vorhersagekraft für ein postoperatives Risiko als der RCRI (Gupta, Gupta et al. 2011). Allerdings wird bei diesem Index das eigentliche Risiko unterschätzt (Devereaux and Sessler 2015), da die Definition für einen Myokardinfarkt ausschließlich auf elektrokardiographischen Veränderungen basiert (Gupta, Gupta et al. 2011), Zusätzlich wurden in der Studie, die als Grundlage für die Entwicklung des NSQIP MICA Risk Index diente, die Levels der kardialen Biomarker nicht systematisch überwacht (Devereaux and Sessler 2015). Bekanntermaßen werden ohne eine solche Überwachung der kardialen Biomarker mehr als die Hälfte der perioperativen Myokardinfarkte nicht entdeckt (Devereaux, Xavier et al. 2011).

Der NSQIP MICA Risk Index berücksichtigt die folgenden Variablen: Alter, Geschlecht, ASA PS, Notfallindikation, Medikation mit Kortikosteroiden, Aszites, Sepsis, metastasiertes Malignom, Beatmungspflichtigkeit, Diabetes, arterieller Hypertonus, kongestive Herzinsuffizienz, Dyspnoe, Nikotinabusus, COPD, Dialysepflichtigkeit, Body Mass Index (BMI) und die Fähigkeit zur eigenständigen Versorgung (American College of Surgeons. NSQIP Surgical Risk Calculator, 2017)

#### 1.1.6.4 ANESCARDIOCAT Index

Anders als der RCRI und NSQIP MICA Risk Index versucht der ANESCARDIOCAT Index von Sabaté et al. (Sabaté, Mases et al. 2011) nicht nur postoperative kardiale, sondern auch zerebrovaskuläre Ereignisse, also MACE vorherzusagen. Er setzt sich aus den folgenden sieben Risikofaktoren zusammen:

- chronische Niereninsuffizienz
- abnormales präoperatives EKG (Linksherzhypertrophie, Linksschenkelblock, abnormale ST-Strecken)
- intraoperative Hypotension (Abfall des mittleren arteriellen Blutdrucks (MAP) um  $> 20$  mm Hg (oder  $>20\%$ ) ausgehend vom normalen präoperativen MAP des Patienten für mehr als 60 Minuten mit der Notwendigkeit einer Medikamentengabe)
- Transfusion von Erythrozytenkonzentraten
- KHK
- chronisches kongestives Herzversagen in der Krankengeschichte
- zerebrovaskuläre Erkrankungen in der Krankengeschichte

Der ANESCARDIOCAT Index zeigte sowohl in der eigenen Studienpopulation, als auch im externen ARISCAT Datensatz (Canet, Gallart et al. 2010) einen guten Vorhersagewert und entdeckte im direkten Vergleich mit dem RCRI in beiden Datensets sogar mehr eigentliche Ereignisse (Sabaté, Mases et al. 2011).

Trotz allem sind klinische Risiko-Indizes bekannt dafür, das Risiko für manche Patienten zu unterschätzen (Biccard 2015). Viele Patienten, die operiert werden, sind lange Zeit davor immobil. In der NSQIP MICA Studie waren 22% der Patienten funktionell vollständig abhängig, d.h. sie waren von anderen Personen abhängig für

Tätigkeiten des täglichen Lebens und 20% waren teilweise abhängig (Gupta, Gupta et al. 2011, Devereaux and Sessler 2015). Bedingt durch die Immobilität wird bei manchen Patienten folglich eine kardiale Erkrankung gar nicht erkannt (Devereaux and Sessler 2015).

### **1.1.7 Bestimmung kardialer Biomarker**

Eine weitere Möglichkeit zur Abschätzung des postoperativen kardialen Risikos bei nicht-herzchirurgischen Eingriffen stellt die Messung kardialer Biomarker dar.

#### **1.1.7.1 BNP und NT-proBNP als präoperativer kardialer Biomarker**

Der kardiale Biomarker B-Typ natriuretisches Peptid (BNP) bzw. N-terminales proBNP (NT-proBNP) wird präoperativ gemessen. Die Bestimmung von BNP bzw. NT-proBNP ist kostengünstig und nimmt nur wenige Minuten in Anspruch (Devereaux and Sessler 2015). In einer Metaanalyse von Daten von 2179 Patienten war ein erhöhtes BNP- bzw. NT-proBNP-Level der stärkste präoperative Indikator für ein Versterben oder einen Herzinfarkt innerhalb der ersten dreißig postoperativen Tage (Rodseth, Biccard et al. 2014).

#### **1.1.7.2 Troponin als postoperativer kardialer Biomarker**

Die meisten Myokardinfarkte nach nicht-herzchirurgischen Operationen ereignen sich innerhalb der ersten 48 postoperativen Stunden, wenn Patienten Medikamente erhalten, die potentiell die Symptome einer Ischämie verschleiern können (Devereaux, Xavier et al. 2011, Devereaux and Sessler 2015). 65% aller Patienten, die einen postoperativen Myokardinfarkt erleiden, zeigen keinerlei Symptome einer Ischämie (Devereaux,

Xavier et al. 2011). Weiterhin wird geschätzt, dass 4.6% aller Patienten (4,6 Millionen Patienten) über 45 Jahren, die sich weltweit einer großen nicht-herzchirurgischen Operation unterziehen, postoperativ eine myokardiale Verletzung aufweisen, die nicht die universelle Definition eines Myokardinfarktes erfüllen. All diese Ereignisse werden ohne perioperative Messung von Troponin nicht entdeckt werden. Von diesen Patienten versterben 7.8% innerhalb von dreißig Tagen nach der Operation (Devereaux and Sessler 2015) - deshalb wird Troponin als Biomarker für schwerwiegende kardiale Komplikationen erforscht. Es zeigte sich, dass ein asymptomatischer postoperativer Anstieg von Troponin T auf Werte über 0.02-0.03ng/ml, bei dem die Kriterien für die Definition eines Myokardinfarktes jedoch nicht gegeben waren, mit einem erhöhten Risiko für ein Versterben innerhalb der ersten 30 Tagen nach einer nicht-herzchirurgischen Operation assoziiert war (Devereaux 2012, Botto, Alonso-Coello et al. 2014). Damit liegen die Werte von Troponin T unter dem normalerweise als pathologisch angesehenen Wert von über 0.04 ng/ml (Panteghini, Pagani et al. 2004, Thygesen, Alpert et al. 2007).

## **1.2 Retikuläre Thrombozyten als Biomarker für kardiovaskuläre, zerebrovaskuläre und thromboembolische Komplikationen nach nicht-herzchirurgischen Operationen**

### **1.2.1 Physiologie der Thrombozyten:**

Thrombozyten sind kernlose Blutkörperchen, die eine wichtige Rolle bei Hämostase, Thrombose, bei Entzündungsprozessen und auch bei der Wundheilung spielen (Gawaz, Langer et al. 2005). Im Menschen werden jeden Tag ungefähr  $10^{11}$  Thrombozyten mit einer Lebensspanne von 8 bis 10 Tagen produziert und von ihren Elternzellen, den Megakaryozyten, in den Blutkreislauf entlassen, um die normale Thrombozytenkonzentration bei  $150-400 \times 10^9/L$  aufrechtzuerhalten (Harrison and Goodall 2008). Falls ein erhöhter Bedarf an Thrombozyten besteht, kann die Produktion um den Faktor 10 gesteigert werden. Für die Regulation der Thrombopoese ist in erster Linie Thrombopoietin, ein azides Glykoprotein, verantwortlich, welches hauptsächlich in der Leber und im Knochenmark produziert wird (Kaushansky 2005). Die Thrombozytenpopulation ist jedoch nicht homogen. Je nach Art der Aktivierung, der Antwort auf verschiedene Agonisten- sowie der Morphologie und Größe können diverse Subpopulationen klassifiziert werden (Mangalpally, Siqueiros-Garcia et al. 2010). Retikuläre Thrombozyten stellen eine davon dar.

### **1.2.2 Physiologie der retikulären Thrombozyten**

Retikuläre Thrombozyten (reticulated Platelets; RP) sind analog zu den Retikulozyten der Erythropoese neu gebildete Thrombozyten. Sie stellen die jüngsten Thrombozyten im Blutkreislauf dar (Ault and Knowles 1995) und haben eine durchschnittliche Lebensspanne von weniger als 24 Stunden (Dale, Friese et al. 1995). Die Anzahl der retikulären Thrombozyten im peripheren Blut reflektiert die Produktion von Thrombozyten durch die Megakaryozyten im Knochenmark und folglich auch den

Umsatz der Thrombozyten (Ault, Rinder et al. 1992). Die Tatsache, dass sie reich an mRNA sind und sich somit durch Thiazol-Orange anfärben lassen, verleiht RP sowohl ihr Aussehen als auch ihren Namen. Zusätzlich haben RP eine höhere Masse als jüngere Thrombozyten und häufig ein höheres Volumen (Hirsh, Glynn et al. 1968, Robinson, Mackie et al. 1998).

Abhängig von den Studien sind über 60% der gesamten RP große Plättchen. Unterteilt man Thrombozyten nach ihrer Größe, stellen RP einerseits mehr als 15% der Gruppe der großen Thrombozyten und andererseits weniger als 2% der kleinen Thrombozyten dar (Thompson, Love et al. 1983, Guthikonda, Alviar et al. 2008, Mangalpally, Siqueiros-Garcia et al. 2010).

RP sind metabolisch und enzymatisch aktiver als reife Thrombozyten und zeichnen sich insbesondere durch eine erhöhte prothrombotische Aktivität aus. Schon früh konnte gezeigt werden, dass sie schneller mit Kollagen aggregieren als reifere Thrombozyten (Hirsh, Glynn et al. 1968). Weiterhin zeigen sie sowohl eine vermehrte Thromboxan B<sub>2</sub>-Synthese (Jakubowski, Thompson et al. 1983, Martin, Trowbridge et al. 1983) als auch ein vermehrtes Freisetzen von Serotonin und eine erhöhte Expression von GP1b und GP2b/3a an (Tschoepe, Roesen et al. 1990). Bis vor einigen Jahren konnten RP nur mittels Durchflusszytometrie bestimmt werden. Dieser Methode fehlte allerdings ein standardisiertes Verfahren und viele der veröffentlichten Protokolle variierten sehr (Matic, Chapman et al. 1998). Vor kurzem wurde eine neue voll automatisierte Methode entwickelt, die leicht durchzuführen, einfach zu interpretieren, standardisiert und reproduzierbar ist (Briggs, Kunka et al. 2004). Obwohl lange Zeit davon ausgegangen wurde, dass RP als nukleäre Körperchen weitestgehend metabolisch inaktiv seien, gibt es immer mehr Hinweise darauf, dass sie sogar Spliceosom-Komplexe enthalten und abhängig von einer Aktivierung pre-mRNA splicen und translatieren können, um

prothrombotische und proinflammatorische Proteine zu synthetisieren (Zimmerman and Weyrich 2008, Rowley, Schwertz et al. 2012).

### **1.2.3 Bisheriger klinischer Nutzen retikulärer Thrombozyten:**

Der bisherige klinische Nutzen der Bestimmung von RP beschränkte sich lange Zeit auf hämatologische Patienten: So ist die Bestimmung von RP von großem Nutzen, um die Rate der Knochenmarksregeneration bei Patienten nach Chemotherapie zu überwachen (Chaoui, Chakroun et al. 2005). Des Weiteren bietet sich die Bestimmung von RP bei Patienten mit idiopathischer Thrombozytopenie an. Hier erlauben sie die Unterscheidung zwischen einer verminderten Thrombopoese und einer erhöhten Destruktion von Thrombozyten als Ursache für die Thrombozytopenie (Pons, Montegudo et al. 2010, Meintker, Haimerl et al. 2013). Darüber hinaus werden RP als Marker zum Screening für Makrothrombozytopenie diskutiert (Miyazaki, Koike et al. 2015).

### **1.2.4 Bisherige Forschung zu retikulären Thrombozyten:**

Neben ihrer Bedeutung bei hämatologischen Erkrankungen werden weiterhin ihre Assoziation mit kardio- bzw. zerebrovaskulären Erkrankungen und der Einfluss von RP auf die Thrombozytenaggregationshemmung viel beforscht. Bei vielen Patienten mit kardio- und zerebrovaskulären Erkrankungen strebt man eine medikamentöse Hemmung der Thrombozytenaggregation an. Bei gesunden Patienten stand eine erhöhte Aggregationsrate und auch die vermehrte Expression prothrombotischer Proteine wie P-Selektin, GP2b/3a und COX-2 sowohl vor, als auch nach Aggregationshemmung durch Aspirin (Guthikonda, Lev et al. 2007) sowie durch Clopidogrel (Ibrahim, Nadipalli et al. 2012) in Zusammenhang mit erhöhten retikulären Thrombozyten. Zusätzlich konnte

eine Korrelation zwischen einer erhöhten Resistenz gegen Aggregationshemmer und erhöhten retikulären Thrombozyten auch bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit nachgewiesen werden (Guthikonda, Alviar et al. 2008, Grove, Hvas et al. 2011).

### **1.2.5 Zusammenhang zwischen retikulären Thrombozyten und kardio- bzw. zerebrovaskulären Erkrankungen:**

Trotz ihres noch nicht weit verbreiteten klinischen Einsatzes waren und sind RP in der letzten Zeit Gegenstand vieler Studien und intensiver Forschung. Dies ist in großem Maße der Rolle geschuldet, die Thrombozyten in der Pathogenese vieler kardio- und zerebrovaskulärer Erkrankungen spielen, sowie der gesellschaftlichen und volkswirtschaftlichen Bedeutung dieser Krankheiten. In mehreren Studien ergaben sich Hinweise, dass in Situationen mit einem erhöhten Thrombozytenumsatz der Anteil der RP stark anstieg. So konnte gezeigt werden, dass bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom, d.h. mit instabiler Angina pectoris, ST-Hebungsinfarkt (STEMI) oder Non-ST-Hebungsinfarkt (NSTEMI), der prozentuale Anteil der RP signifikant erhöht war (Lakkis, Dokainish et al. 2004, Grove, Hvas et al. 2009, Gonzalez-Porras, Martin-Herrero et al. 2010). Dasselbe zeigte sich auch bei Patienten mit Schlaganfall (Nakamura, Uchiyama et al. 2002, McCabe, Harrison et al. 2004). Es war jedoch nicht klar, ob die erhöhten RP eine Ursache oder eine Folge der klinischen Ereignisse waren (Guthikonda, Alviar et al. 2008). Für die These, dass RP bereits vor dem Ereignis erhöht waren, spricht einerseits, dass Patienten, die ein akutes Koronarsyndrom oder einen Schlaganfall erlitten, vermutlich ein erhöhtes Maß an Atherosklerose und erhöhte Entzündungsmarker aufweisen (Eikelboom and Warkentin 2014), die wiederum im Zusammenhang mit einem gesteigerten Thrombozytenumsatz stehen (Cotton, Hong et al. 2003). Weiterhin konnten bereits bei Probanden, die aktiv rauchen oder an Diabetes

leiden (zwei unabhängige Risikofaktoren für kardio- und zerebrovaskuläre Erkrankungen), vor Erleiden eines derartigen Ereignisses ebenfalls ein signifikant erhöhter Anteil an RP nachgewiesen werden (Watala, Boncler et al. 1999, Mijovic, Kovacevic et al. 2015). Zusätzlich zeigte sich eine erhöhte Platelet Distribution Width (PDW), die ein Marker für Thrombozyten-Anisozytose darstellt. Beide Parameter deuten auf einen erhöhten Thrombozytenumsatz bei diesen Patientengruppen (Watala, Boncler et al. 1999). Andererseits konnte auch gezeigt werden, dass die Lebenszeit der Thrombozyten bei Patienten nach atherothrombotischem und kardioembolischem Schlaganfall signifikant verkürzt ist und bei Patienten mit kardioembolischem Schlaganfall zusätzlich die Rate der Destruktion von Thrombozyten erhöht ist (Uchiyama, Yamazaki et al. 1997). Beide Beobachtungen sind wiederum indikativ für einen erhöhten Umsatz von Thrombozyten bei Patienten mit zerebro- und kardiovaskulären Erkrankungen. Die beobachteten Phänomene beschränken sich allerdings nicht nur auf die Zeit vor oder kurz nach dem Ereignis. Besondere Bedeutung gewannen RP in den letzten Jahren im Rahmen der kardialen Forschung und werden auf diesem Feld nun intensiv beleuchtet. So fand man z.B., dass ein erhöhter Wert von RP bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom (ACS) einen unabhängigen Prädiktor für kardiovaskuläre Mortalität nach einem Jahr darstellt (Cesari, Marcucci et al. 2013). Außerdem gibt es erste Hinweise darauf, dass RP mit ungünstigem Outcome bei Patienten mit KHK assoziiert sind (Ibrahim, Schutt et al. 2014).

### **1.3 Zusammenfassung**

In Anbetracht der Morbidität und Mortalität durch kardiale, zerebrovaskuläre und thromboembolische Komplikationen nach nicht-herzchirurgischen Operationen wird die Bedeutung zur Identifikation eines derartigen perioperativen Risikos klar. Derartige Patienten benötigen postoperativ sowohl eine intensivere Überwachung als auch potentiell eine intensivere Behandlung (Devereaux, Chan et al. 2012). Dies ist von besonderer Bedeutung, da in einer großen Untersuchung an 47000 operierten Patienten 73% aller postoperativ im Krankenhaus verstorbenen Patienten nie in eine Intensivstation eingewiesen wurden (Pearse, Moreno et al. 2012).

Obwohl schon mehrere Risiko-Indizes entwickelt wurden, sind auch deren Schwächen evident. Weiterhin stellen BNP bzw. NT-proBNP und Troponin zwar vielversprechende Biomarker dar, jedoch kann damit einzig das kardiale Risiko abgeschätzt werden. Des Weiteren bilden diese Biomarker nur den perioperativen Verlauf ab, wobei intraoperatives Geschehen nicht reflektiert wird.

Thrombozyten spielen eine ausschlaggebende Rolle in der Pathophysiologie derartiger Komplikationen und Erkrankungen. In diesem Zusammenhang sind insbesondere die metabolisch aktiveren und prothrombotische Stoffe produzierenden retikulären Thrombozyten von Interesse. Einerseits sind RP sehr billig und einfach zu bestimmen, andererseits konnte in vielen Studien gezeigt werden, dass sie vermutlich eine große Rolle in der Genese kardio- und zerebrovaskulärer, sowie thromboembolischer Erkrankungen spielen und mit einem schlechteren Outcome assoziiert sind (Cesari, Marcucci et al. 2013, Ibrahim, Schutt et al. 2014). Deshalb wird in dieser Studie die Frage gestellt, ob sich retikuläre Thrombozyten als Prädiktor für Komplikationen nach nicht-herzchirurgischen Operationen eignen.

## 2 METHODEN

### 2.1 Studiendesign:

Die Studie war eine prospektive, unizentrische, Observationsstudie an Patienten mit geplanter nicht-herzchirurgischer Operation mit intermediärem bis hohem OP-Risiko. Das Risiko der Operationen wurde definiert laut den ACC (American College of Cardiology), bzw. AHA (American Heart Association) – Leitlinien (Fleisher, Beckman et al. 2007). Operationen mit hohem Risiko sind Eingriffe mit einem berichteten kardialen Risiko >5%, wogegen Operationen mit mittlerem Risiko ein kardiales Risiko zwischen 1% und 5% aufweisen.

<u>Niedriges Risiko</u>	<u>Mittleres Risiko</u>	<u>Hohes Risiko</u>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Endoskopische Eingriffe</li><li>• Oberflächliche Eingriffe</li><li>• Kataraktchirurgie</li><li>• Brustchirurgie</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Karotis-Endarteriektomie</li><li>• Kopf-/Halschirurgische Eingriffe</li><li>• Orthopädische Eingriffe</li><li>• Prostatachirurgie</li><li>• Intrapertoneale/Intrathorakale Eingriffe</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Eingriffe an der Aorta und großen Gefäßen</li></ul>

Tabelle 1 Operation und OP-Risiko

Das Studienprotokoll (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02097602) wurde von der Ethikkommission des Klinikums Rechts der Isar der technischen Universität München genehmigt und in Übereinstimmung mit der Deklaration von Helsinki durchgeführt. Alle eingeschlossenen Patienten unterschrieben vor Einschluss in die Studie eine Einwilligungserklärung.

Diese Arbeit wurde in einem großen Team durchgeführt, die Ergebnisse sind bereits in dem internationalen Journal Thrombosis and Haemostasis publiziert (Anetsberger, Blobner et al. 2017). Eine weitere Promotion mit anderem Schwerpunkt ist geplant.

## **2.2 Probanden:**

Es wurden stationäre Patienten aus den Fachgebieten Viszeral-, Unfall-, MKG-, Neuro- und Gefäßchirurgie sowie Orthopädie rekrutiert. Regulär wurden auf dem OP-Plan im Zeitraum von Februar 2014 bis August 2014 die für die nächsten Tage in Frage kommenden Patienten ausgewählt, über die Studie und deren Vor- und Nachteile aufgeklärt und um ihre schriftliche Einwilligung gebeten.

## **2.3 Einschlusskriterien:**

- Chirurgische Therapie in einem der o.g. Fachgebiete
- Alter >18 Jahre
- Einwilligungsfähigkeit
- Geplanter Eingriff entweder high risk oder intermediate risk laut ACC/AHA (Fleisher, Beckman et al. 2007)

## 2.4 Ausschlusskriterien:

- Alter < 18 Jahre
- Low risk Eingriff
- Herzchirurgischer Patient
- Patient spricht weder Deutsch noch Englisch

## 2.5 Endpunkte:

Als primärer Endpunkt wurde das Auftreten von modified MACE (modMACE) während des Krankenhausaufenthaltes gewertet, die eine Kombination von sowohl MACE als auch tiefer Venenthrombose (TVT) und Lungenembolie darstellen. MACE wurden laut Sabaté et al. definiert. (Sabate, Mases et al. 2011). Als MACE galten

- **nicht letaler Herzstillstand:** Gänzliche Abwesenheit eines Herzrhythmus oder chaotischer Rhythmus, durch den der Patient entweder basic oder advanced life support benötigte.
- **Herzinfarkt:** Ein Anstieg und langsamer Abfall von Troponin oder ein schnellerer Anstieg und Abfall des CK-MB Isoenzymen begleitet von mindestens einem der folgenden Symptome:
  1. Zeichen einer Herzischämie
  2. abnormale Q-Welle im EKG, ST-Hebung oder ST-Senkung im EKG
  3. Koronararterielle Intervention
  4. Abfall eines erhöhten Troponin-Levels, während das Maximum nach der Operation bei einem Patienten gemessen wurde, ohne dokumentierte alternative Erklärung für das erhöhte Troponin-Level

- **kongestive Herzinsuffizienz:** Neu aufgetretene Zeichen einer Dyspnoe, Fatigue, Orthopnoe, einer paroxysmalen nächtlichen Dyspnoe, eines erhöhten jugularvenösen Druckes, einer Jugularvenenstauung, einer Kardiomegalie oder einer Mehrbelastung der Lungengefäße.
- **Arrhythmie:** Elektrokardiographischer Nachweis von neu aufgetretenem Vorhofflattern, Vorhofflimmern oder eines AV-Block Grad 2 oder 3
- **Angina pectoris:** neu aufgetretener dumpfer, diffuser, substernaler Schmerz verstärkt durch körperliche Anstrengung oder Aufregung und gelindert durch Ruhe oder Nitroglycerin
- **Schlafanfall/TIA:** embolisches, thrombotisches oder hämorrhagisches zerebrales Ereignis über eine Mindestdauer von 30 Minuten mit oder ohne persistierender motorischer, sensorischer oder kognitiver Dysfunktion. Dauern die neurologischen Symptome länger als 24 Stunden an, wird das Ereignis als Schlaganfall definiert. Dauern die neurologischen Symptome kürzer als 24 Stunden an, wird das Ereignis als transitorische ischämische Attacke gewertet.
- **Kardiovaskulärer Tod:** Jeder Tod, außer es konnte eindeutig eine andere nicht kardiovaskuläre Todesursache nachgewiesen werden.
- **Zerebrovaskulärer Tod:** Jeder zerebrovaskulär bedingte Tod.

Als sekundäre Endpunkte wurden die Dauer des Krankenhausaufenthaltes, die Dauer eines eventuellen Intensivaufenthaltes und die Mortalität nach 90 Tagen postoperativ gewertet

## 2.6 Blutabnahmen:

Es waren für die Studie pro Patient insgesamt drei Blutabnahmen angestrebt:

1. Präoperativ in einem Intervall von 24h vor Operationsbeginn
2. Postoperativ in einem Intervall von 1h nach der Operation
3. Postoperativ in einem Intervall von 24-72h nach der Operation

Die notwendigen Parameter konnten bei routinemäßig abgenommenen mit EDTA antikoagulierten Blutproben bei der Abteilung für klinische Chemie des Klinikums rechts der Isar mitbestellt werden.

## 2.7 Blutparameter:

Die für die Studie relevanten Parameter waren:

1. Hämoglobin **Hb** - der Hämoglobingehalt des Blutes in g/dl
2. Hämatokrit **Hkt** – der prozentuale Anteil des korpuskulären Blutanteils
3. Thrombozyten **Thr** – die Anzahl der Thrombozyten im Blut in G/l
4. Kreatinin **Krea** – die Menge von Kreatinin im Blut in mg/dl
5. Immature Platelet Fraction **IPF** - der prozentuale Anteil der unreifen Thrombozyten an der Gesamtzahl der Thrombozyten

6. Highly-fluorescent Immature Platelet Fraction **H-IPF** – der prozentuale Anteil der besonders unreifen Thrombozyten an der Gesamtzahl der Thrombozyten
7. Mean Platelet Volume **MPV** – Das durchschnittliche Thrombozytenvolumen

## **2.8 Messung von IPF und H-IPF**

IPF und H-IPF konnten vollautomatisch mit dem Sysmex XE-2100 (Sysmex, Kobe, Japan) bestimmt werden. Dies geschah mittels Fluoreszenzfärbung und Durchflusszytometrie. Die unreifen Thrombozyten sind zwischen 1-2 Tage alte Thrombozyten, die noch größer als reife Thrombozyten und reich an m-RNA von den Megakaryozyten sind (Cesari, Marcucci et al. 2013). Die m-RNA ließ sich spezifisch mit einem Fluoreszenzfarbstoff anfärben. Der Farbstoff enthält Polymethin und Oxazin (Cesari, Marcucci et al. 2013). Beide Farben durchdringen die Zellmembran, worauf die m-RNA nun analog zu den Retikulozyten der Erythropoese als netzartige Struktur erkennbar ist.

Die angefärbten Zellen fließen bei der Fluoreszenz-Durchflusszytometrie durch eine Durchflusszelle, währenddessen sie von einem Halbleiterlaser bestrahlt werden. Dies erzeugt verschiedene Signale.

- Forward Scatter (Vorwärtsstreuung) liefert Informationen über das Zellvolumen
- Sideway Scatter (Seitwärtsstreuung) liefert Informationen über den Zellinhalt
- Sideway Fluorescence (Seitwärtsfluoreszenz) liefert Informationen über die Menge an Nukleinsäure (Herstellerbroschüre Durchflusszytometrie, Sysmex XE-2100, p. 4).

Zellen mit ähnlichen Eigenschaften lassen sich nun als Punktwolke in einem Scattergramm von anderen Zellen abgrenzen. Durch einen Logarithmus des Herstellers (Sysmex IPF Master) können die reifen (blaue Punkte) von den unreifen (grüne Punkte) getrennt werden. Die unreifen Thrombozyten werden als Prozentsatz der totalen Plättchenanzahl ausgedrückt (Immature Platelet Fraction, IPF) und stellen die Rate der Plättchenproduktion dar (Cesari, Marcucci et al. 2013). Zusätzlich können die unreifen Plättchen mit besonders viel m-RNA, die sich folglich auch besonders intensiv anfärben lassen (highly-fluorescent immature platelet fraction; H-IPF), als Prozentsatz innerhalb der unreifen Plättchen ausgedrückt werden (Cesari, Marcucci et al. 2013)

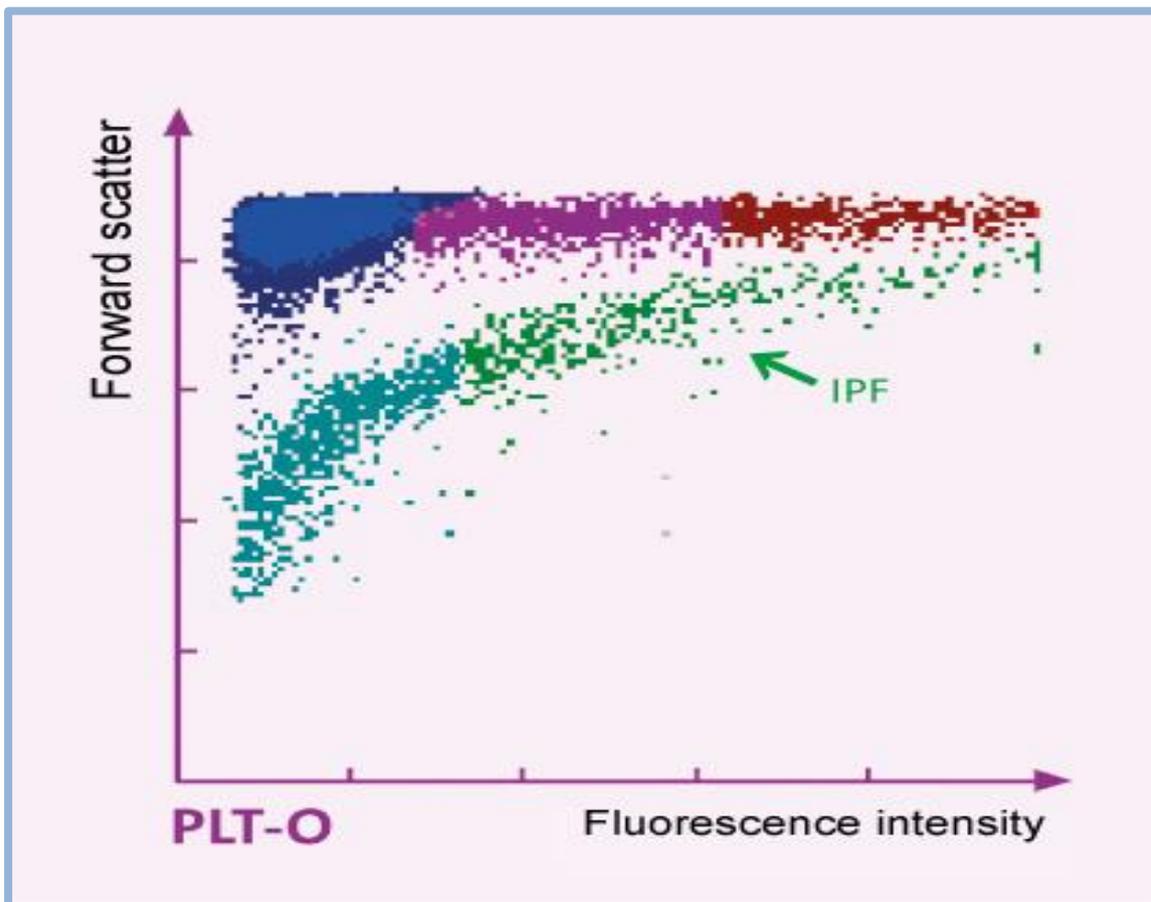


Abbildung 1: Scattergramm IPF mittels Durchflusszytometrie (Sysmex Herstellerbroschüre)

## 2.9 Datensammlung:

Anschließend wurden im Zeitraum von September 2014 bis Januar 2015 die Akten der eingeschlossenen Patienten ausgewertet. Von Relevanz waren die bereits präoperativ bestehenden Vorerkrankungen, die intraoperative anästhesiologische Betreuung, sowie der postoperative Verlauf im Krankenhaus vor Entlassung mit den primären Endpunkten. Besonderes Augenmerk galt weiterhin den aus der ANESCARDIOCAT-Studie (Sabate, Mases et al. 2011) nachgewiesenen Risikofaktoren für perioperative MACEs, dem Revised Cardiac Risk Index (Lee, Marcantonio et al. 1999) und dem ASA-Score. Es wurde das Excel Tabellenkalkulationsprogramm von Microsoft verwendet.

### 2.9.1 Präoperative Daten:

Folgende bereits präoperativ bekannte Daten und Vorerkrankungen wurden dokumentiert und waren, außer es ist anders deklariert, entsprechend Sabaté et al. und wie folgt definiert (Sabate, Mases et al. 2011):

- Geschlecht: männlich oder weiblich
- Alter: in Jahren
- Gewicht, Größe und BMI
- Zigarettenkonsum: Patient hat entweder nie geraucht, hat bis 15 Tage vor der Operation regelmäßig geraucht oder raucht immer noch regelmäßig
- Art der Operation und chirurgische Disziplin
- Hoch-Risiko Operation: gefäßchirurgischer Eingriff an der Aorta oder anderen großen, sowie peripheren Gefäßen

- Operation mit mittlerem Risiko: intraperitonealer und intrathorakaler Eingriff, Karotis-Endarteriektomie, chirurgischer Eingriff im Kopf-/Halsbereich, orthopädische Operationen, sowie endovaskuläre Prozeduren
- ASA-Score: dokumentiert im Prämedikationsprotokoll
- Revised Cardiac Risk Score: errechnet aus Vorerkrankungen, dokumentiert in der Patientenakte (Lee, Marcantonio et al. 1999)
- Art. Hypertonus: erhöhter arterieller Blutdruck, der eine chronische Medikamenteneinnahme fordert, in der Patientenakte dokumentiert oder vom Patienten angegeben
- Koronare Herzkrankheit: in der Patientenakte dokumentiert, vom Patienten angegeben oder Angina Pectoris bzw. Myokardinfarkt in der Voranamnese
- Myokardinfarkt: Q-Wellen oder Non-Q-Wellen Infarkt vor der Operation, in der Patientenakte dokumentiert oder signifikante Q-Wellen im präoperativen EKG
- Stattgehabte kardiale Intervention: perkutane Koronarintervention oder jede Herzoperation, dokumentiert in der Patientenakte
- Herzinsuffizienz: in der Patientenakte dokumentiert, vom Patienten angegeben, oder beobachtet als Stadium der New York Heart Association 1-4
- Präoperative Arrhythmie: arrhythmische Herzrhythmusstörung, dokumentiert in der Patientenakte oder beobachtet im präoperativen EKG
- Kongestives Herzversagen: dokumentiert in der Patientenakte
- Klappenvitien: dokumentiert in der Patientenakte
- Präoperative EKG-Abnormitäten: Linksventrikuläre Hypertrophie, Linksschenkelblock oder ST-T Abnormitäten (Charlson, MacKenzie et al. 1990)
- Asthma/COPD: dokumentiert in der Patientenakte

- Zerebrovaskuläre Vorerkrankungen: anamnestisch bekannte bzw. in der Patientenakte dokumentierte transitorische ischämische Attacke oder Schlaganfall mit oder ohne neurologischem Defizit
- Niereninsuffizienz: vom Patienten angegeben, dokumentiert in der Patientenakte oder Kreatinin > 2mg/dl in der präoperativen Blutabnahme
- Diabetes Mellitus: behandelt diätetisch, mit oralen Antidiabetika oder mit Insulin; vom Patienten angegeben oder in der Patientenakte dokumentiert
- Hyperlipidämie: vom Patienten angegeben oder in der Patientenakte dokumentiert, behandelt diätetisch oder mit oralen Medikamenten
- Vorerkrankungen der Leber: vom Patienten angegeben, in der Patientenakte dokumentiert oder beobachtet (Ikterus, Hepatomegalie, Aszites)
- Präoperative Thrombozytenaggregationshemmung: dokumentiert im Prämedikationsprotokoll oder in der Patientenakte
- Präoperative Antikoagulation: dokumentiert im Prämedikationsprotokoll oder in der Patientenakte

## **2.9.2 Intraoperativer anästhesiologischer Verlauf:**

Hier wurden anhand des Narkoseprotokolls Daten bezüglich des intraoperativen Flüssigkeitshaushaltes, der gegebenen Blutprodukte und kreislaufstabilisierender Medikamente, sowie der Narkoseart, des Narkoseverlaufs und intraoperativer kardiopulmonaler Komplikationen festgehalten.

Speziell wurden zusätzlich dokumentiert:

- Intraoperative Hypotension: ein mehr als 60 Minuten andauernder Abfall der arteriellen Mitteldrucks um mehr als 20 mmHg oder mehr als 20% vom

normalen präoperativen arteriellen Mitteldruck des Patienten. Der Abfall macht die Gabe kardiovaskulärer Medikamente nötig (Charlson, MacKenzie et al. 1990)

- Intraoperative Hypertension: ein mehr als 15 Minuten andauernder Anstieg von mehr als 20 mmHg oder mehr als 20% vom normalen präoperativen arteriellen Mitteldruck des Patienten. Der Anstieg macht die Gabe kardiovaskulärer Medikamente nötig (Charlson, MacKenzie et al. 1990).

### **2.9.3 Postoperativer Verlauf im Krankenhaus vor Entlassung:**

Postoperativ wurden das Auftreten von MACEs, TVTs, Lungenembolien sowie die Dauer eventueller Intensivaufenthalte postoperativ, Infektionen, Blutungen und eventueller Tod im Krankenhaus erfasst. Die Daten wurden der Patientenakte entnommen.

### **2.10 Statistik**

Die Variablen werden entweder als arithmetisches Mittel und Standardabweichung (SD) oder als Median mit Interquartilsabstand ausgedrückt. Die IPF Verteilungen sind durch Mediane und Interquartilsabstände zusammengefasst. Um die Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne modMACE zu beurteilen, wurden kategoriale Variablen mit dem Chi-Quadrat-Test und zeitabhängige Variablen mit dem Log-Rank-Test verglichen. Unterschiede zwischen kontinuierlichen Variablen wurden mit einem zweiseitigen Student's t-test oder mit einem Mann Whitney-U-Test für Variablen mit schiefer Verteilung beurteilt.

IPF wurde zu drei Zeitpunkten gemessen. Um sowohl Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne modMACE als auch Veränderungen über die Zeit zu beurteilen, wurden die Werte mittels eines allgemeinen linearen Modells mit der Zeit als Faktor innerhalb der Gruppen und dem Auftreten von modMACE als Faktor zwischen den Gruppen und ihre Interaktionsgröße verglichen. Da die Verteilung der IPF-Werte positiv schief ist, wurden die statistischen Analysen logarithmischer Transformation folgend durchgeführt.

Da die IPF-Werte 24-72h postoperativ bei 132 Patienten fehlten, wurden diese Werte durch die durchschnittlichen Werte der respektiven Gruppe angerechnet. Post hoc Analysen wurden mit dem student's t-test ohne angerechnete Werte ausgeführt.

Mittels Log-rank Optimierung wurde ein IPF Level gefunden, das einen prognostischen Wert für modMACE haben könnte (Altman, Lausen et al. 1994) (Lange and Bender 2007). Als ideale Abgrenzung wurde der IPF-Wert erachtet, der die Studienteilnehmer in zwei Gruppen teilt, bei denen der Log-Rank Vergleich das höchste Chi-Quadrat lieferte.

Um den Zusammenhang zwischen erhöhten retikulären Thrombozyten im Aufwachraum und modMACEs zu beurteilen, errechneten wir ein multivariates Cox Regressionsmodell. Der Hauptfaktor war die dichotome Variable, die zeigte, ob das IPF Level über dem Niveau war, das durch die Log Rank Optimierung identifiziert wurde. Etablierte Risikofaktoren wie die medizinische Vorgeschichte des Patienten, stratifiziert mittels ASA PS (Prause, Ratzenhofer-Comenda et al. 1997), als auch Alter, Geschlecht, body mass index (BMI), OP-Risiko, intraoperative Hypotension, intraoperative Transfusion und Hämoglobin und Thrombozyten gemessen präoperativ bzw. im Aufwachraum (Musallam, Tamim et al. 2011, Sabaté, Mases et al. 2011) wurden als

potentielle Kovariaten erachtet. Das Modell enthielt nur relevante Risikofaktoren mit einem signifikanten Effekt auf die Inzidenz von modMACE im univariaten Test. Die Cox-Regression wurde mit einer schrittweisen Rückwärtsregression berechnet. Kovariaten wurden in das Modell eingeschlossen, wenn  $p < 0.05$  war.

Um die Robustheit der Ergebnisse zu beurteilen, führten wir verschiedene Sensitivitätsanalysen durch. Eintausend bootstrap samples wurden gezogen. Eine Vorwärtsselektion der Variablen, basierend auf Akaikes Informationskriterium und die oben erwähnten potentiellen prädikativen Variablen beinhaltend, wurde in jedem der samples vollzogen. Zusätzlich wurde ein CART (Classification and Regression Tree) für die Daten angepasst, um Patienten mit hohem oder niedrigem Risikos für modMACE zu klassifizieren (Breiman, Friedman et al. 1984). Die Variablen Hämoglobin (präoperativ und im Aufwachraum), IPF (Aufwachraum), intraoperative Transfusion, ASA > 2, Thrombozyten (Aufwachraum), intraoperative Hypotension und das Patientenalter wurden als potentielle Prädiktoren in Betracht gezogen. Den Gini-Index verwendeten wir als splitting rule.

Alle statistischen Tests wurden mit den Software Paketen SPSS statistics 22 (IBM SPSS, Inc.) und R Version 3.3.0 (R Foundation for Statistical Computing) berechnet.

Ein p-Wert von  $p < 0.05$  wurde als statistisch signifikant angesehen.

### 3 ERGEBNISSE

#### 3.1 Teilnehmende Probanden:

Während der Zeit zwischen Februar und September 2014 willigten 1000 Patienten in die Teilnahme an der Studie ein. Von den ursprünglich 1000 eingeschlossenen Patienten konnten 730 im Rahmen der Studie untersucht werden. Bei 15 Patienten wurde die Operation kurzfristig nicht durchgeführt. Bei 106 Probanden war die Messung der retikulären Thrombozyten präoperativ und bei 147 weiteren Probanden die Messung der retikulären Thrombozyten im Aufwachraum nicht möglich. Von den nun 732 Probanden zogen zwei im Nachhinein ihre Einwilligung zurück, so dass die Untersuchung letztendlich an 730 Probanden (n=730) durchgeführt werden konnte. Die Messung der Blutparameter 24-72h nach der Operation gelang bei 598 Probanden. 34 (4,6%) der Patienten konnten bezüglich des sekundären Outcomes nicht nachverfolgt werden, obwohl mindestens drei getrennte Versuche unternommen wurden, die Patienten und/oder Familienmitglieder zu erreichen.

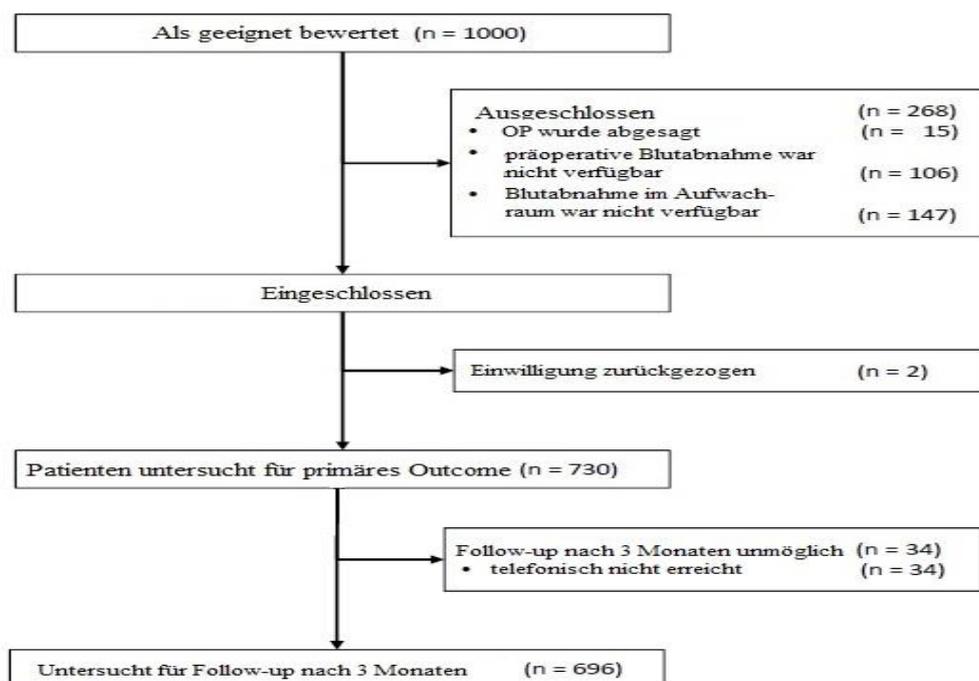


Abbildung 2: Flowchart Patientenrekrutierung

### 3.2 Studienpopulation und Vorerkrankungen:

Von den untersuchten Probanden waren 402 (55.1%) männlich und 330 (44,9%) weiblich. Das Durchschnittsalter betrug  $63 \pm 15$  Jahre (mean  $\pm$  SD). Der Body Mass Index (BMI = Gewicht (kg) / [Größe (m)]<sup>2</sup>) lag im Median bei 25.9 (Interquartilsabstand 23.1-29.3) und damit im Bereich der Präadipositas. Mehr als die Hälfte der Probanden (55.9%) litten unter arterieller Hypertension. In der medizinischen Vorgeschichte der Patienten fanden sich weiterhin bei 16.9% eine KHK, bei 10% ein Herzinfarkt, bei 15.5% eine kardiale Intervention sowie bei 12.6% eine Arrhythmie.

Das präoperative EKG zeigte bei 2.7% eine linksventrikuläre Hypertrophie, bei 3.8% einen Linksschenkelblock und ST-Strecken-Abnormitäten bei 2.5%.

Etwas weniger als die Hälfte der Probanden (45.8%) war zum Zeitpunkt der Operation aktive Raucher. Ein Diabetes mellitus fand sich bei 15.5% und eine Hyperlipidämie bei 27.2%. Des Weiteren hatten 5.2% eine Hirngefäßerkrankung (TIA/Schlaganfall) in ihrer Vorgeschichte und 9.6% waren zum Zeitpunkt der Operation chronisch nierenkrank.

43.7% der Probanden hatten mindestens einen Risikofaktor laut RCR-Index und bei 87.4% der Probanden betrug der ASA physical status  $\geq$  ASA II.

Demographische Daten	Insgesamt (n=730)
Alter (Mittelwert $\pm$ SD)	63 $\pm$ 15
Männlich, n(%)	402 (55.1)
BMI, median (Interquantil-Spanne)	25.9 (23.1-29.3)
Kardiale Vorgeschichte zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses	
Bluthochdruck, n(%)	408 (55.9)
Koronare Herzkrankheit, n(%)	123 (16.9)
Myokardinfarkt, n(%)	73 (10)
Kardiale Intervention, n(%)	113 (15.5)
Arrhythmie, n(%)	92 (12.6)
Kongestives Herzversagen, n(%)	5 (0.7)
Abnormales EKG, n(%)	
Linksherzhypertrophie	18 (2.7)
Linksschenkelblock	26 (3.8)
ST-T-Abnormitäten	17 (2.5)
Revised cardiac risk index, n(%)	
0	411 (56.3)
1	233 (31.9)
2	68 (9.3)
3	15 (2.1)
4	3 (0.4)
Pulmonale Vorgeschichte	
Tabak Konsum, n(%)	
Nein	331 (45.8)
Ehemals	222 (30.7)
Ja	170 (23.5)
Asthma/COPD, n(%)	86 (11.8)
Metabolische Erkrankungen	
Diabetes mellitus, n(%)	113 (15.5)
Hyperlipidämie, n(%)	198 (27.2)
Andere Erkrankungen	
Zerebrovaskuläre Vorerkrankung, n(%)	38 (5.2)
Chronische Niereninsuffizienz	70 (9.6)
Leberkrankungen, n(%)	82 (11.2)
ASA I	92 (12.6)
ASA II	455 (62.3)
ASA III	181 (24.8)
ASA IV	2 (0.3)

Tabelle 2: Demographische Daten und Vorerkrankungen; BMI=body mass index, COPD=chronic obstructive pulmonary disease, ASA=American Society of Anesthesiologists physical status

### 3.3 Art der Operationen und anästhesiologischer Verlauf

Von den 730 untersuchten Probanden erhielten 304 (41.2%) und damit die Mehrzahl eine neurochirurgische Operation, gefolgt von 23.6% viszeralchirurgischen, 17.5% gefäßchirurgischen, 12.5% orthopädischen und 4.7% MKG-chirurgischen Eingriffen. In Bezug auf die OP-Risiken der Operationen war eine große Mehrheit (93.7%) der Operationen mit einem mittleren Risiko verbunden, wohingegen nur 6.3% der Operation mit einem hohen Risiko einhergingen, fast alle davon Eingriffe an den großen Gefäßen.

Bei 56 (7.7%) der Patienten mussten intraoperativ Erythrozytenkonzentrate transfundiert werden und bei 35 (4.8%) der Probanden Fresh Frozen Plasma (FFP). Thrombozytenkonzentrate mussten nur bei einem Probanden gegeben werden. Intraoperative Hypotension, einer der von Sabaté et al. identifizierten Risikofaktoren für MACE (Sabaté, Mases et al. 2011), konnte bei 56 (7.7%) der Probanden nachgewiesen werden.

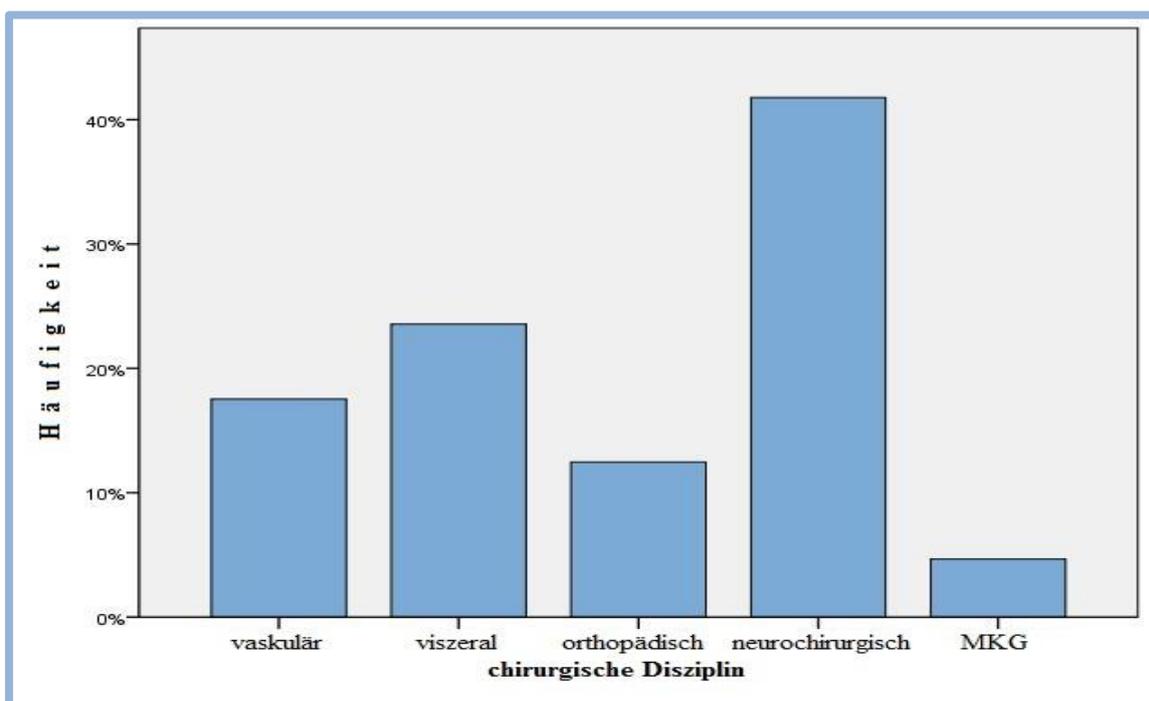


Abbildung 3: Säulendiagramm zur Verteilung der OP-Arten

### 3.4 Art der Anästhesie:

Die Mehrzahl der Probanden (607, 83.15%) erhielt eine Allgemeinanästhesie, gefolgt von einer Kombination aus Allgemeinanästhesie und Periduralanästhesie (82, 11.23%). Jeweils 16 (2.2%) der Probanden bekamen nur eine periphere Anästhesie oder sonstige Formen der Anästhesie (Lokalanästhesie/Sedierung). Die Kombination aus Allgemeinanästhesie und peripherer Anästhesie wurde nur bei 1.1% der Probanden durchgeführt und eine reine Spinalanästhesie nur bei einem einzigen Probanden.

Art der Anästhesie	Anzahl (n=730)	Prozentual
Allgemeinanästhesie	607	83.15
Allgemein- und Periduralanästhesie	82	11.23
Allgemein- und periphere Anästhesie	8	1.1
Spinalanästhesie	1	0.14
Periphere Anästhesie	16	2.2
Lokalanästhesie/Sedierung	16	2.2

Tabelle 3: Anästhesiearten

Bei Betrachtung der durchgeführten Allgemeinanästhesien stellte sich heraus, dass mehr als 70% davon als balancierte Anästhesie durchgeführt wurden, gefolgt von totalen intravenösen Anästhesien (TIVA).

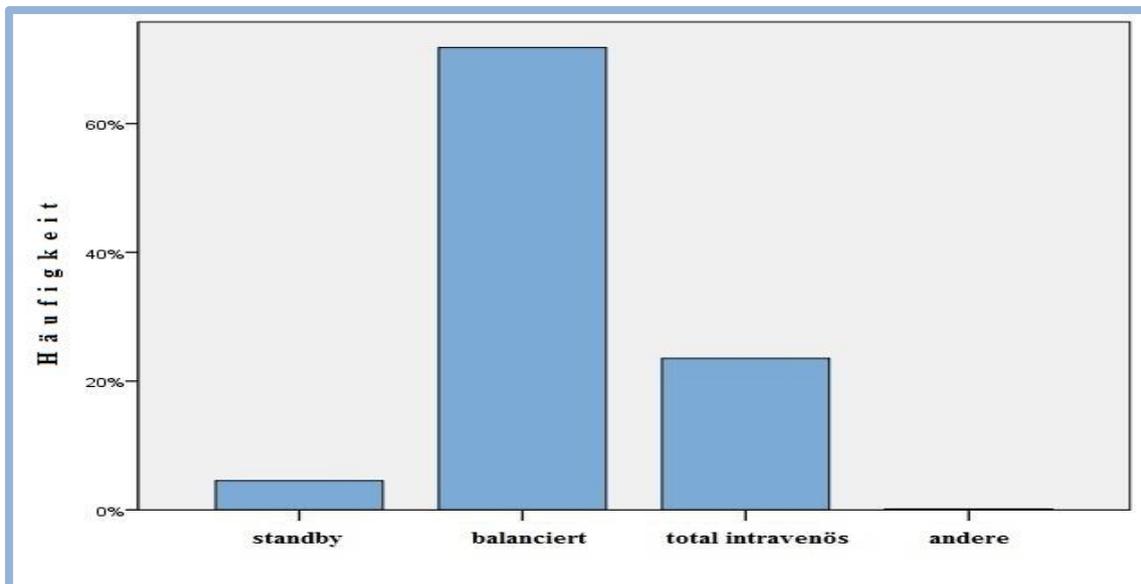


Abbildung 4: Säulendiagramm der Arten der Allgemeinanästhesie

### 3.5 Laborparameter:

Da das Hauptanliegen der Studie die potentielle Veränderung von Blutparametern war, soll nun auf die drei Blutabnahmen eingegangen werden. IPF und H-IPF konnten sowohl präoperativ, als auch im Aufwachraum bei 730 Probanden bestimmt werden. Die Bestimmung der Parameter im Intervall von 24h-72h nach der Operation gelang bei 598 Probanden. Alle Werte sind ausgedrückt als Median und Interquartilsabstand.

Der Hämoglobingehalt sank im Median von 13.1 (11.8-14.3) g/dl präoperativ über 12.0 (10.4-13.2) g/dl im Aufwachraum auf 11.1 (9.5-12.6) g/dl 24h-72h nach der Operation.

Die Gesamthrombozyten sanken von 224 (186-272) G/l auf 193 (158-232) G/l im Aufwachraum, stiegen dann jedoch leicht an auf 194 (157-235) G/l 24h-72h nach der Operation.

Hinsichtlich IPF kam es nur zu einem geringen Anstieg. So war IPF präoperativ mit 2.9% (2-4.2%) und im Aufwachraum mit 2.9% (2.1-4.5%) ähnlich und stieg 24h-72h nach der Operation auf 3.2% (2.1-4.6%) an.

Dasselbe galt für H-IPF. Wie schon bei IPF, war auch H-IPF präoperativ mit 0.8% (0.5-1.3%) und im Aufwachraum mit 0.8% (0.6-1.3%) ähnlich und stieg 24h-72h nach der Operation auf 0.9% (0.6-1.3%) an.

Laborparameter	Bei Aufnahme (n=730)	Aufwachraum (n=730)	24-72h postoperativ (n= 598)
Hämoglobin	13.1 (11.8-14.3)	12.0 (10.4-13.2)	11.1 (9.5-12.6)
Thrombozyten	224 (186-272)	193 (159-232)	194 (157-235)
IPF	2.9 (2-4.2)	2.9 (2.1-4.5)	3.2 (2.1-4.6)
H-IPF	0.8 (0.5-1.3)	0.8 (0.6-1.3)	0.9 (0.6-1.3)

Tabelle 4: Blutparameter Hämoglobin in g/dl, Thrombozyten in Tsd/ $\mu$ l, IPF/H-IPF als % der Gesamtthrombozyten

### 3.6 Aufgetretene modMACE

Mindestens ein modMACE trat bei 28 (3.8%) der 730 Patienten auf, wovon 16 (2.2%) ein Major Adverse Cardiac Event erlitten. Bei 8 Probanden ereignete sich ein Schlaganfall, 7 verstarben an Herzversagen und 6 erlitten eine Lungenembolie. Von den 598 Patienten, bei denen alle drei Messungen gelangen hatten 27 mindestens ein modMACE.

Aufgetretenes Ereignis	Gesamt n = 730 (%)
modMACE	28 (3.8)
Major Adverse Cardiovascular Event	16 (2.2)
Herzinfarkt	3 (0.4)
Angina pectoris	4 (0.5)
Arrhythmie	7 (1.0)
Nicht-letaler Herzstillstand	2 (0.3)
Kongestives Herzversagen	7 (1.0)
Kardiovaskulärer Tod	7 (1.0)
Schlaganfall	8 (1.1)
Zerebrovaskulärer Tod	0 (0)
Tiefe Venenthrombose	4 (0.5)
Lungenembolie	6 (0.8)

Tabelle 5: Aufgetretene modMACE

### 3.7 Assoziation zwischen IPF und modMACE:

Bezogen auf die Patienten mit und ohne modMACE unterschieden sich beide postoperativen, nicht aber die präoperativen Werte signifikant zwischen den beiden Gruppen.

Laborparameter	Gesamt (n=730)	Kein modMACE (n=702)	modMACE aufgetreten (n=28)	p-Wert
IPF präoperativ (n=730)	2.9 (2-4.2)	2.9 (1.9-4.2)	3.1 (2.3-4.5)	P=0.282
IPF im Aufwachraum (n=730)	2.9 (2.1-4.5)	2.9 (2-4.4)	3.6 (2.6-6)	P=0.011
IPF 24h-72h postoperative (n=598)	3.2 (2.1-4.6)	3.1 (2-4.5)	3.9 (2.7-6.3)	P=0.005

Tabelle 6: IPF bei Patienten mit und ohne modMACE

IPF nahm im Aufwachraum bei der gesamten Studienpopulation im Median um 0.15% (0.05%-0.20%,  $p < 0.001$ ) und im 24h-72h Intervall postoperativ um 0.25% (0.15%-0.30%,  $p < 0.001$ ) zu. IPF war präoperativ bei Probanden mit modMACE mit 3.1% (2.3-4.5%) leicht erhöht, jedoch war der Unterschied nicht signifikant ( $p = 0.282$ ). Anders war dies bei der Messung im Aufwachraum, wo IPF bei Probanden mit modMACE 3.6% (2.6-6%) betrug und damit signifikant ( $p = 0.011$ ) höher war als bei Probanden ohne modMACE mit 2.9% (2-4.4%). Im Median war IPF damit bei Probanden mit modMACE 0.8% (0.2-1.5%) höher. Bei der Messung 24h-72h nach der Operation fiel der Unterschied noch höher aus: bei Probanden mit modMACE betrug IPF 3.9% (2.7-6.3%,  $p = 0.005$ ) und bei Probanden ohne modMACE nur 3.1% (2-4.5%). Der mediane Unterschied lag bei 1.0% (0.3-1.8%).

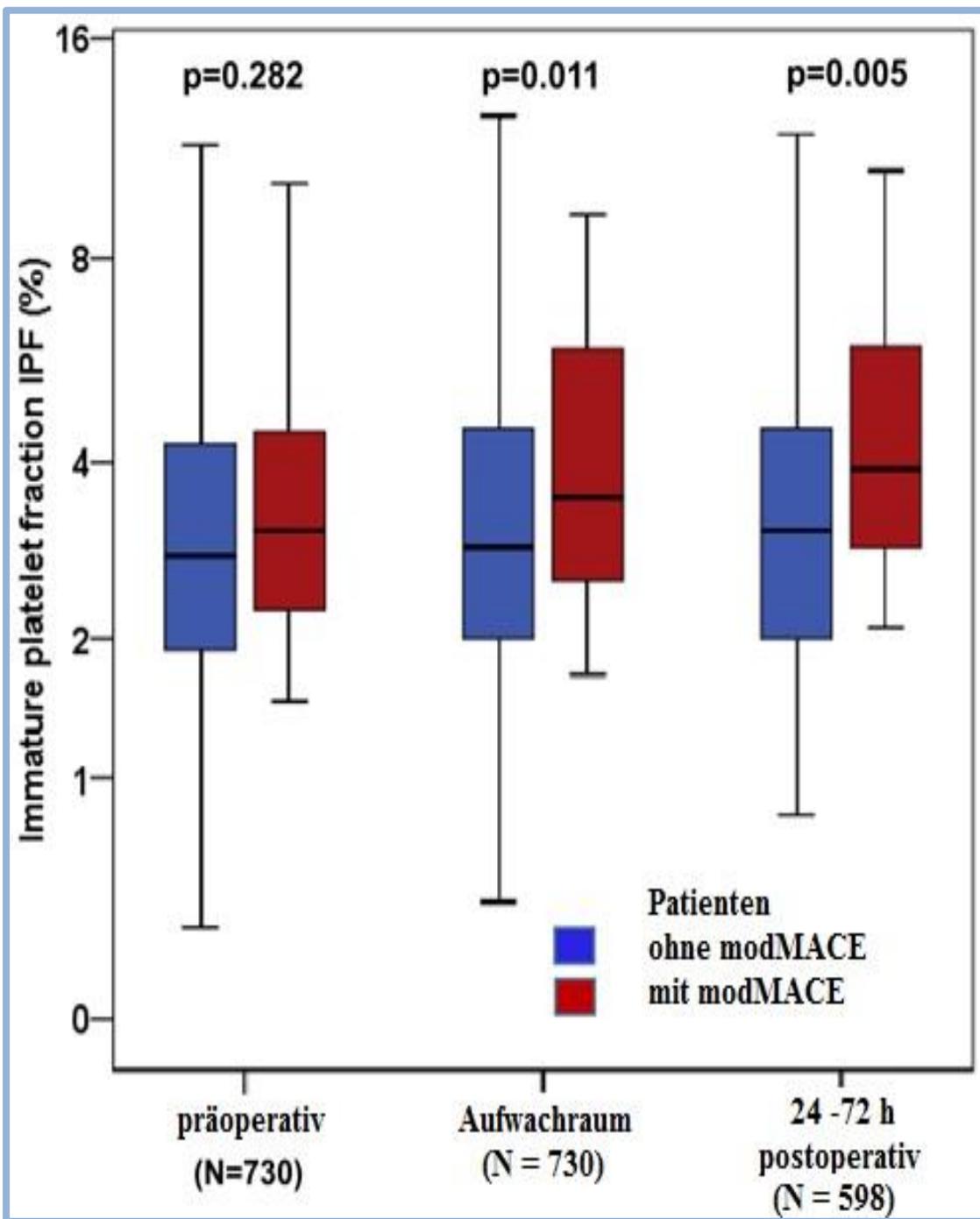


Abbildung 5: Boxplot zu IPF bei Pat. mit und ohne modMACE gemessen präoperativ, im Aufwachraum und 24-72h postoperativ; ein generelles lineares Modell zeigte einen relevanten Anstieg von IPF über die Zeit bei allen Patienten ( $p < 0.001$ ). Der Effekt trat bei Patienten mit modMACE verstärkt auf. IPF war in Patienten mit modMACE signifikant erhöht ( $p = 0.016$ ). IPF-Werte sind logarithmisch dargestellt, P-Werte in der Abbildung repräsentieren den posthoc Vergleich zum jeweiligen Zeitpunkt der Messung, *IPF = immature platelet fraction*

### 3.8 Assoziation zwischen H-IPF und modMACE:

Laborparameter	Gesamt (n=598)	Keine modMACE (n=571)	modMACE (n=27)	p-Value
H-IPF präoperativ (n=730)	0.8 (0.5-1.3)	0.8 (0.5-1.3)	0.9 (0.6-1.4)	P=0.375
H-IPF Aufwachraum (n=730)	0.8 (0.6-1.3)	0.8 (0.5-1.3)	1.2 (0.8-2.2)	P=0.002
H-IPF 24h-72h postoperative (n=598)	0.9 (0.6-1.4)	0.9 (0.5-1.3)	1.2 (0.9-1.9)	P=0.003

Tabelle 7: H-IPF bei Patienten mit und ohne modMACE

Eine ähnliche Assoziation konnte auch bei H-IPF beobachtet werden. Die Probanden mit und ohne modMACE unterschieden sich bezüglich der präoperativen Messung nicht. Bei der Messung im Aufwachraum war H-IPF bei Patienten mit modMACE mit 1.2% (0.8-2.2%) signifikant höher (p=0.002) als bei Patienten ohne modMACE. Wie schon bei IPF fiel auch bei H-IPF der Unterschied bei der Messung 24h-72h nach der Operation noch stärker aus. Während H-IPF bei Patienten ohne modMACE 0.9% (0.5-1.3%) betrug, so war H-IPF bei Probanden mit modMACE auf 1.2% (0.9-1.9%) erhöht (p=0.003).

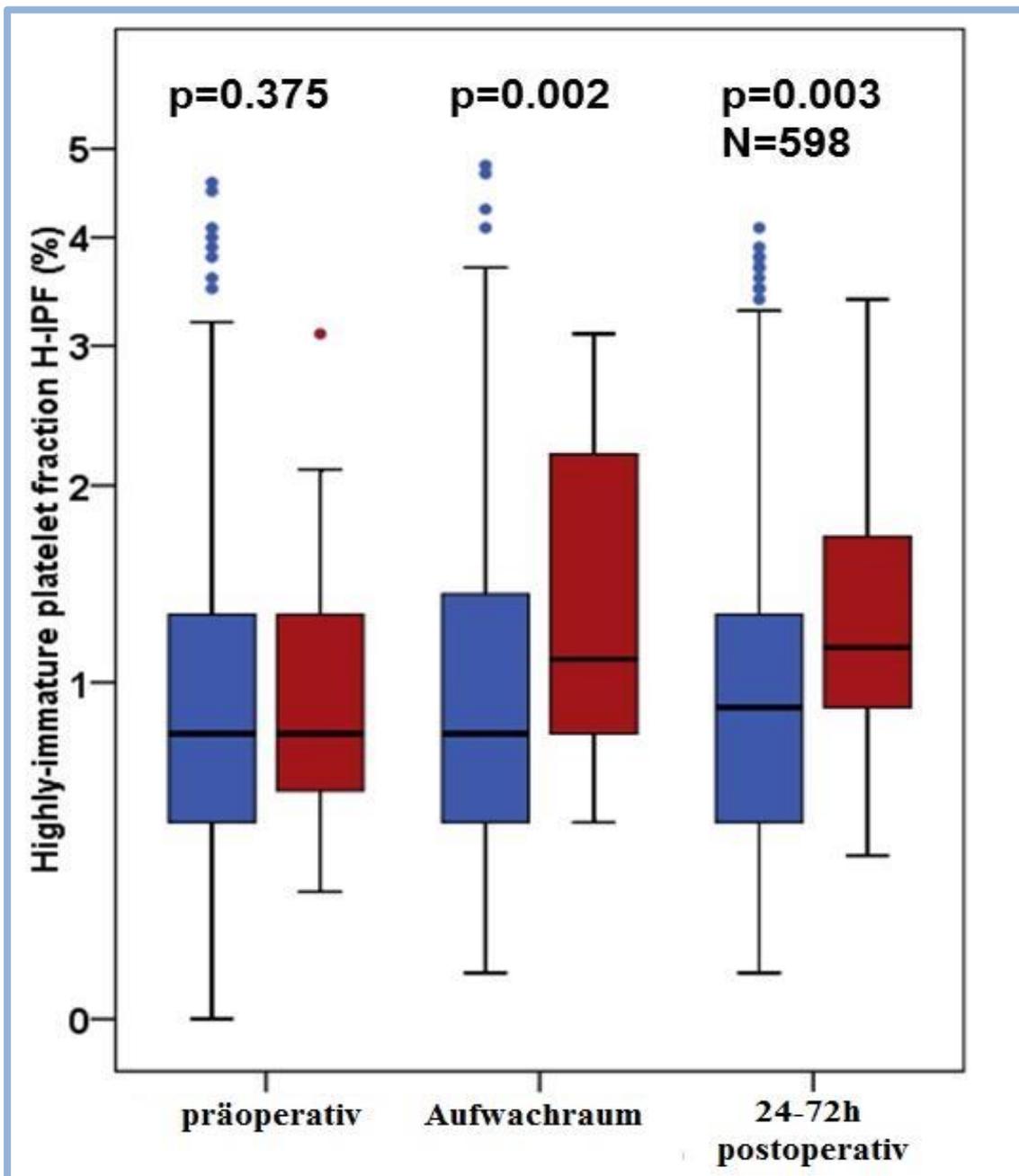


Abbildung 6: Boxplot zu H-IPF mit und ohne modMACE gemessen präoperativ, im Aufwachraum und 24-72h postoperativ; Boxplot in blau repräsentiert H-IPF bei Patienten ohne modMACE, Boxplot in rot repräsentiert H-IPF bei Patienten mit modMACE

### 3.9 Bestimmung eines Cut-off Wertes für IPF:

Mittels Log-rank Optimierung konnte mit einem IPF-Wert von 5.4% derjenige IPF-Wert gefunden werden, der die größte Unterscheidungskraft zwischen Probanden mit und ohne modMACE hatte. 113 Probanden hatten im Aufwachraum eine  $IPF > 5.4\%$ , von denen 8.8% im postoperativen Verlauf ein modMACE entwickelten und damit signifikant häufiger ( $p=0.003$ ) als Probanden mit einem  $IPF < 5.4\%$ , von denen nur 2.9% ein modMACE erlitten.

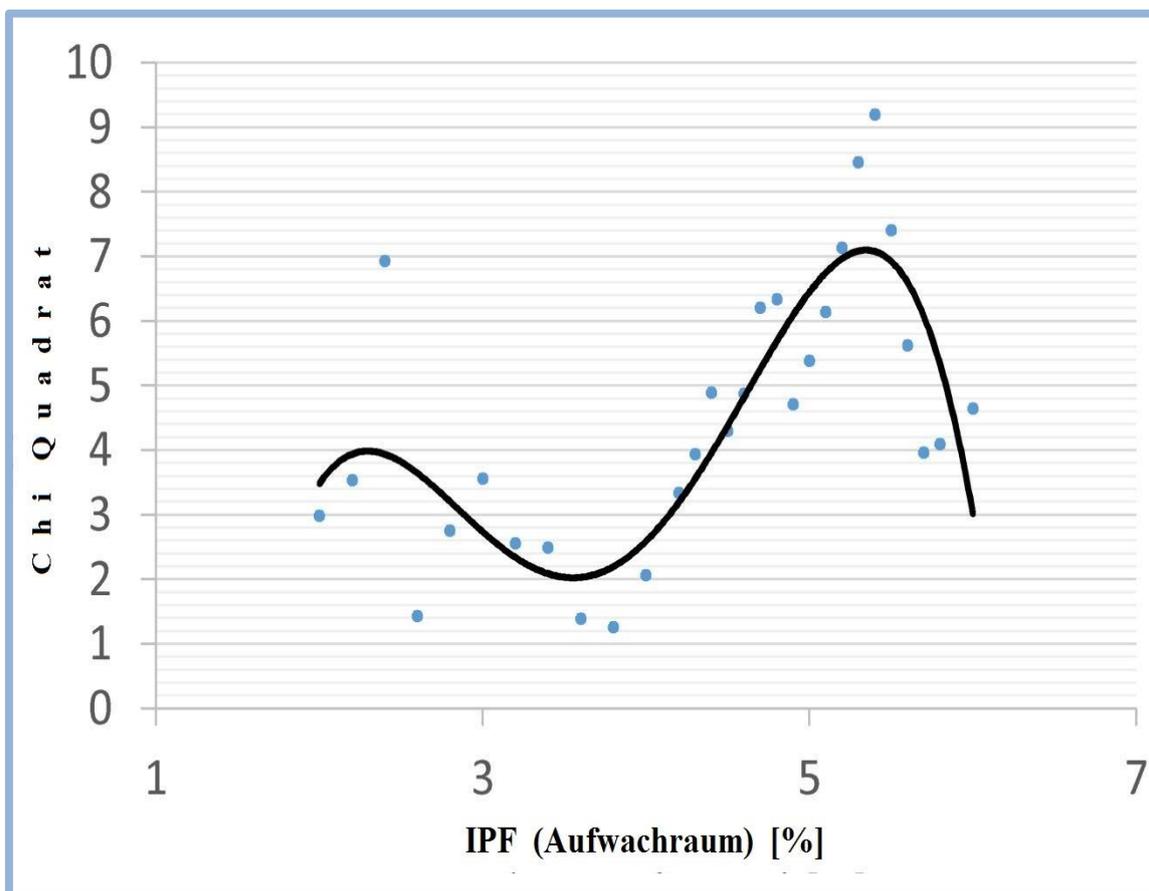


Abbildung 7: Chi-Quadrat Kurve von IPF zur Ermittlung des IPF-Wertes mit der stärksten Trennschärfe; Als ideale Abgrenzung wurde der IPF-Wert erachtet, der die Studienteilnehmer in zwei Gruppen teilt, bei denen der Log-Rank Vergleich das höchste Chi-Quadrat lieferte.

### 3.10 Univariate Analyse

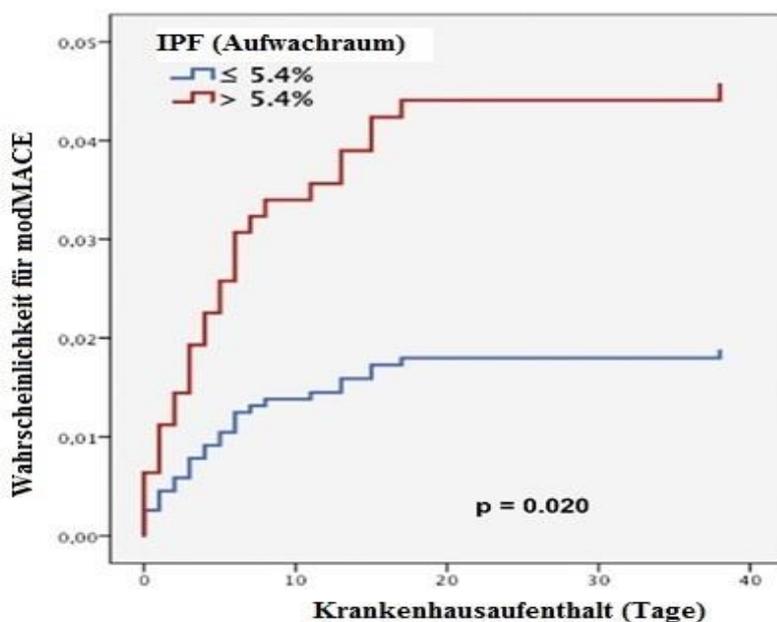
Die univariate Analyse zeigte Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne modMACE bezüglich des Alters, ASA PS, intraoperativer Transfusion, intraoperativer Hypotension, Hämoglobin (präoperativ und im Aufwachraum) und Thrombozyten (im Aufwachraum). Im Gegenteil dazu war bezüglich Geschlecht, BMI, Konsum von Tabak, präoperative Thrombozyten und Risiko der Operation, kein Unterschied zu vermerken.

Risikofaktoren	Keine modMACE	modMACE	p-Wert
Alter [Jahre]	62 ± 15	70 ± 11	0.005
Männliches Geschlecht	384 (54.7)	18 (64.3)	0.316
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	25.9 (23.1-29.3)	26.2 (23.2-30.1)	0.710
Nikotinabusus			0.492
Nein	537 (76.5)	23 (82.1)	
Ja	165 (23.7)	5 (17.9)	
ASA physical status			<0.001
≤2	537 (76.5)	10 (35.7)	
>2	165 (23.5)	18 (64.3)	
Operationsrisiko			0.073
Mittel	660 (94)	24 (85.7)	
Hoch	42 (6.0)	4 (14.3)	
Hämoglobin (präoperativ), [g/dl]	13.1 (11.8-14.3)	12.1 (10.8-13.0)	0.005
Hämoglobin (AWR), [g/dl]	12.0 (10.4-13.2)	10.1 (8.6-11.6)	<0.001
Thrombozyten (präoperativ), [G/l]	224 (186-272)	233 (177-277)	0.944
Thrombozyten (AWR), [G/l]	193 (159-232)	158 (124-214)	0.014
Intraoperative Transfusion, [ja]	57(8.1)	9 (32)	<0.001
Erythrozytenkonzentrate [ja]	47 (6.7)	9 (32.1)	
Fresh frozen plasma [ja]	30 (4.3)	5 (17.9)	
Thrombozytenkonzentrate [ja]	1 (0.1)	0 (0)	
Intraoperative Hypotension	51 (7.3)	5 (17.9)	0.044

Tabelle 8: Risikofaktoren bei Patienten mit und ohne modMACE: Catoriale Variablen sind als Zahl und Prozentsatz angegeben, kontinuierliche Variablen als Mittel ± Standardabweichung oder als Median mit Interquartilswerten. *BMI = body mass index, ASA = American Society of Anesthesiologists, AWR = Aufwachraum, modMACE= modified major adverse cardiac or cerebrovascular event*

### 3.11 Multivariate Cox Regressionsanalyse

Die multivariate Cox Regressionsanalyse enthielt die folgenden Risikofaktoren für modMACE: intraoperative Transfusion (HR 2.331 [0.969 – 5.516];  $p = 0.059$ ), ASA > 2 (HR 3.360 [1.492 – 7.567];  $p = 0.003$ ), Hämoglobin im Aufwachraum (HR 0.757 [0.606 – 0.945];  $p = 0.014$ ) und IPF im Aufwachraum als logarithmische Darstellung (HR 1.980 [1.021 – 3.839];  $p = 0.043$ ). In einem zweiten Schritt wurde IPF im Aufwachraum als dichotome Variable verwendet, die zeigte, ob das IPF Level über oder unter dem identifizierten Grenzwert von 5.4% war. Dabei wurden dieselben Risikofaktoren für modMACE identifiziert.



Parameter der multivariaten Analyse	Hazard Ratio (HR (95%KI))	p-Wert	Bootstrap Auswahl %
IPF (Aufwachraum) > 5.4%	2.528 (1.156 – 5.528)	0.020	73.3%
ASA physical status > 2	3.306 (1.468 – 7.442)	0.004	81.9%
Hb (Aufwachraum) [g/dl]	0.759 (0.610 – 0.946)	0.014	75.8%
Intraoperative Transfusion	2.401 (1.017 – 5.667)	0.046	57.4%

Abbildung 8: Cox proportional hazards Modell für modMACE während des Krankenhausaufenthaltes. Nach Anpassung für relevante Risikofaktoren nach einer vorwärts schrittweisen Methode war IPF, gemessen im Aufwachraum, signifikant mit modMACE assoziiert. Im letzten Schritt verbleibende Faktoren sind mit ihrem Hazard Ratios und Konfidenzintervallen dargestellt. Ausgeschlossene Faktoren waren: Alter, präoperatives Hämoglobin, intraoperative Hypotension, und Thrombozyten im Aufwachraum. Die letzte Spalte repräsentiert die relative Auswahlfrequenz in 1000 bootstrap samples, in denen die Selektion der Variablen basierend auf dem Akaike Information Criterion (AIC) durchgeführt wurde, um die Robustheit der Ergebnisse darzustellen. ASA = American Society of Anesthesiologists, IPF = immature platelet fraction, modMACE = modified major adverse cardiovascular events,

### 3.12 CART

CART zeigte, dass ein niedriger Hämoglobinwert im Aufwachraum ( $<9$  g/dl) mit einem erhöhten Risiko für modMACE (15.5%) assoziiert ist. In dieser anämischen Subkohorte hatten Patienten mit ASA  $> 2$  die höchste modMACE Inzidenz (30%). Zusätzlich war ein Hämoglobinwert im Aufwachraum von  $\geq 9$ g/dl ebenfalls mit einem erhöhten Risiko für modMACE assoziiert, wenn die Patienten eine intraoperative Transfusion erhalten hatten. Bei Patienten ohne Zeichen einer verstärkten Blutung wie zum Beispiel niedriges postoperatives Hämoglobin oder eine intraoperative Transfusion gibt IPF zusätzliche Information zur Risikostratifikation, da ein IPF  $\geq 7.9\%$  ein erhöhtes Risiko für modMACE vorhersagt (11.1%).

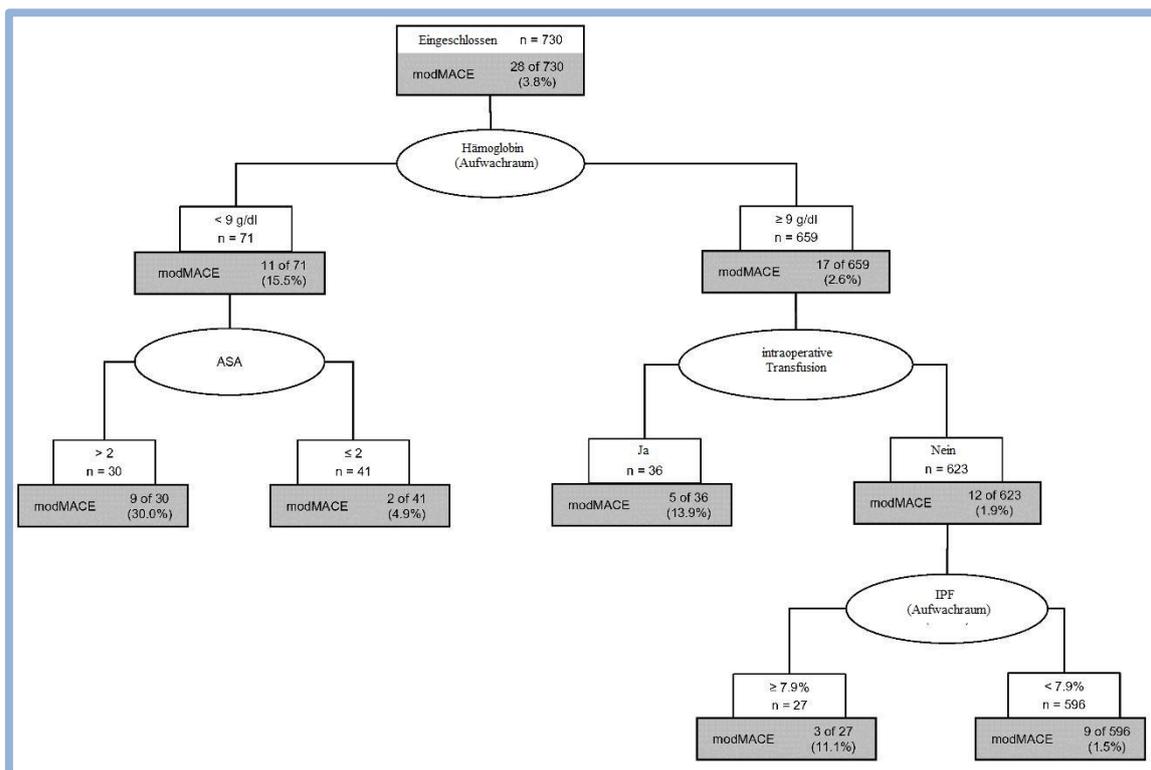


Abbildung 9: CART-Analyse: Classification and regression tree für die Klassifikation von Patienten mit höherem oder niedrigerem Risiko für modMACE (Teilung basierend auf den Gini Kriterien): modMACE = modified major adverse cardiovascular events, ASA = American Society of Anesthesiologists, IPF = immature platelet fraction

## **4 DISKUSSION**

Die vorgestellte Studie hat, soweit uns bekannt, als Erste den Zusammenhang zwischen retikulären Thrombozyten und schweren kardiovaskulären Komplikationen nach nicht-herzchirurgischen Operationen untersucht. Die Hauptaussage der Untersuchung ist, dass retikuläre Thrombozyten postoperativ ansteigen; dieser Anstieg stellt einen unabhängigen Prädiktor für die Entwicklung postoperativer modMACE bei chirurgischen Patienten mit oder ohne bereits bestehende kardiovaskuläre Komorbiditäten, dar. Dies kann helfen, Patienten mit erhöhtem Risiko rechtzeitig zu identifizieren.

### **4.1 Inzidenz von modMACE**

Die Inzidenz der modMACE von 3.8% in einer repräsentativen nicht-herzchirurgischen Kohorte fällt in die in der Literatur beschriebene Inzidenzspanne von 1-7% für MACE (Goldman, Caldera et al. 1977, Fleisher and Lehmann 1995, Lee, Marcantonio et al. 1999, Boersma, Kertai et al. 2005, Davenport, Ferraris et al. 2007, Fleisher, Beckman et al. 2007, Devereaux 2008, Kheterpal, O'Reilly et al. 2009). Von den 28 Patienten mit modMACE verstarben sieben auf Grund kardiovaskulärer Ursachen während des Krankenhausaufenthaltes.

## 4.2 Univariate Analyse

Die univariate Analyse zeigte eine Assoziation mit modMACE bezüglich Alter, ASA Physical Status (ASA PS)  $\geq 2$ , intraoperativer Transfusion, intraoperativer Hypotension, vermindertem Hämoglobin (präoperativ und im Aufwachraum) und verminderter Thrombozytenzahl (Aufwachraum). Eine Assoziation von modMACE mit Geschlecht, BMI, Nikotinabusus, präoperativen Thrombozyten und dem Operationsrisiko stellte sich in unserer Studie nicht dar. Hiermit standen unsere Ergebnisse in Einklang mit den Ergebnissen der ANESCARDIOCAT Studie (Sabaté, Mases et al. 2011) bezüglich Alter, BMI, ASA PS, intraoperativer Transfusion, intraoperativer Hypotension, präoperativen Hämoglobin und des Operationsrisikos. Sie unterschieden sich jedoch hinsichtlich der Risikofaktoren Geschlecht und Nikotinabusus, bei denen Sabaté et al. eine Assoziation mit MACE fanden. Wir konnten, gleich mehreren jüngeren Studien (Kheterpal, O'Reilly et al. 2009, Ackland, Harris et al. 2010, Sabaté, Mases et al. 2011) und eines systematischen Reviews (Ford, Beattie et al. 2010) und anders als in älteren Studien (Goldman, Caldera et al. 1977, Lee, Marcantonio et al. 1999, Boersma, Kertai et al. 2005, Davenport, Ferraris et al. 2007) Hoch-Risiko-Operationen nicht als Risikofaktor für die Entwicklung von modMACE demonstrieren. Diese Diskrepanz könnte durch unsere Definition von großen vaskulären Operationen als Hoch-Risiko-Operationen entsprechend den 2007 Leitlinien der American Heart Association und des American College of Cardiologists (Fleisher, Beckman et al. 2007) entstanden sein. Die 2007-Leitlinien beinhalten weder andere längere Operationen als Gefäßoperationen noch Operationen, die mit einem erhöhten Flüssigkeits- und Blutverlust einhergehen, wie es noch in der älteren Leitlinie (Eagle, Berger et al. 2002) der Fall war. Die neueren 2014-Leitlinien (Fleisher, Fleischmann et al. 2014), die jedoch erst nach Beginn unserer Studie publiziert wurden, zählen allerdings wiederum mehr Eingriffe als Hoch-Risiko-Operationen. Dies ist insbesondere deshalb relevant, weil in unserer Studie ein erhöhter

Transfusionsbedarf und Blutverlust während der Operation stark mit modMACE assoziiert war. Zwar waren in unserer Studie Hochrisiko-Operationen nicht statistisch signifikant mit modMACE assoziiert ( $p=0.073$ ), jedoch waren trotzdem prozentual über doppelt so viele (14.3% vs. 6%) der Patienten in der Gruppe der Patienten mit Hochrisiko-Operationen von einem modMACE betroffen. Es bleibt zu klären, ob Hochrisiko-Operationen nur wegen einer zu niedrigen Anzahl an Patienten in unserer Studie nicht signifikant mit modMACE assoziiert waren. Dies müsste an einer größeren Patientenkohorte überprüft werden.

### **4.3 Präoperative Risikofaktoren**

Die präoperativen Risikofaktoren für das Auftreten postoperativer kardiovaskulärer Komplikationen wurden bereits intensiv untersucht und führten zur Entwicklung multipler präoperativer Risikoscores (Lee, Marcantonio et al. 1999, Fleisher, Beckman et al. 2007, Moonesinghe, Mythen et al. 2013, Kristensen, Knuuti et al. 2014, Le Manach, Collins et al. 2016). Nur wenige Studien konzentrierten sich allerdings auf die Suche nach intraoperativen bzw. akut postoperativen Risikofaktoren (Haynes, Regenbogen et al. 2011, Kristensen, Knuuti et al. 2014). Diese Faktoren repräsentieren jedoch den perioperativen Verlauf und haben folglich einen großen Einfluss auf das postoperative Outcome (Devereaux 2012, van Waes, Nathoe et al. 2013). Deshalb untersucht unsere Studie anders als viele andere Untersuchungen davor gerade den intraoperativen Verlauf.

#### **4.4 Surgical Apgar Score als Ausdruck des intraoperativen Verlaufs**

Als Ausdruck des intraoperativen Verlaufs kreierten Gawande et al. in ihrer Studie an allgemein- und gefäßchirurgischen Patienten 2007 den Surgical Apgar Score mit dem Ziel, - analog zum aus der Neonatologie bekannten Apgar-Score - schnell, einfach und kurzfristig das postoperative Risiko eines Patienten abschätzen zu können (Gawande, Kwaan et al. 2007). Es existieren komplexe Modelle, wie zum Beispiel der APACHE-Score (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation-Score) (Knaus, Zimmerman et al. 1981), oder der POSSUM-Score (Physiologic and Operative Severity Score for the Enumeration of Mortality) (Copeland, Jones et al. 1991), die das Risiko für Komplikationen bei chirurgischen Patienten adäquat vorhersagen können. Allerdings werden diese Modelle nicht standardmäßig verwendet, da sie nicht einfach am Krankenbett berechnet werden können, sondern multiple Datenelemente benötigen, die nicht regulär erhoben werden und häufig nicht ausreichend gut von den Mitgliedern eines interdisziplinären Teams verstanden und interpretiert werden können (Whiteley, Prytherch et al. 1996, Regenbogen, Ehrenfeld et al. 2009). Anders als der APACHE-Score und der Possum-Score besteht der Surgical Apgar Score einzig aus drei intraoperativen Variablen. Aus den Faktoren a) niedrigste Herzfrequenz, b) niedrigster arterieller Mitteldruck und c) abgeschätzter Blutverlust können im Surgical Apgar Score maximal 10 Punkte erreicht werden. Da die Faktoren den intraoperativen Verlauf darstellen und problemlos dem Narkoseprotokoll entnommen werden können, ist es damit sofort am Ende der Operation möglich, ein erhöhtes Risiko des Patienten für postoperative Komplikationen, insbesondere auch für myokardiale Verletzung (House, Marolen et al. 2016), abzuschätzen. Das Risiko für postoperative Komplikationen ist umso höher, je niedriger der Wert des Surgical Apgar Score liegt (Gawande, Kwaan et al. 2007). Weiterhin konnte die Vorhersagekraft des Surgical Apgar Score für postoperative Komplikationen in mehreren Ländern auch außerhalb der USA, in

deutlich größeren Kohorten und ebenso für Patienten aus anderen chirurgischen Disziplinen bestätigt und validiert werden (Regenbogen, Ehrenfeld et al. 2009, Haynes, Regenbogen et al. 2011, Reynolds, Sanders et al. 2011). Dabei variierte die Stärke der Assoziation zwischen einem erniedrigten Surgical Apgar Score und erhöhter postoperativer Mortalität innerhalb der chirurgischen Disziplinen erheblich (Reynolds, Sanders et al. 2011).

#### **4.5 Troponin-T als postoperativer Risikofaktor**

Das postoperative Geschehen wurde von Devereaux et al. in der VISION Studie 2012 untersucht: hier konnte nachgewiesen werden, dass ein in den ersten drei postoperativen Tagen erhöhter Troponin-T Wert signifikant mit einer erhöhten Mortalität innerhalb von 30 postoperativen Tagen assoziiert war. Troponin-T Spitzenwerte waren der stärkste Prädiktor für Mortalität nach 30 Tagen, und 41,8% der Todesursachen konnten durch erhöhtes Troponin-T erklärt werden. Darüber hinaus zeigte sich bei den verstorbenen Patienten, dass die mediane Zeit bis zum Eintreten des Todes umso kürzer war, je höher der Troponin-T Spitzenwert ausfiel. Allerdings wurde in der VISION Studie kein präoperativer Troponin-T Wert gemessen, so dass es nicht möglich war einzuschätzen, wie ein präoperativer Wert oder ein Verlauf des Troponin-T Wertes die Risikovorhersage beeinflussen könnte (Devereaux 2012). Diese Ergebnisse sind v.a. deshalb relevant, weil 84% der Patienten, die einen perioperativen Myokardinfarkt nach einer nicht-herzchirurgischen Operation erlitten, keine Symptome einer Ischämie zeigten und bei 35% auch im EKG keine Anzeichen für eine Ischämie zu finden waren (Devereaux 2012). Diese Patienten würden folglich besonders von einem Screening profitieren (Devereaux, Xavier et al. 2011). Einen Zusammenhang zwischen postoperativ erhöhtem Troponin T nach nicht-herzchirurgischen Operationen und darauf

folgend erhöhter Mortalität, insbesondere während des ersten postoperativen Jahres, ergab auch eine Metaanalyse von Levy et al. (Levy, Heels-Ansdell et al. 2011). Ein neueres systematisches Review bestätigt dies sogar bei Patienten, die weder herz- noch gefäßchirurgisch operiert wurden (Ekeloef, Alamili et al. 2016). In einer weiteren neuen Untersuchung konnten diese Vorteile auch für die jüngst von der amerikanischen Food and Drug Association genehmigten hoch sensitiven Troponin-T Bestimmung bestätigt werden (Devereaux, Biccard et al. 2017).

Allerdings muss der Nutzen einer postoperativen Bestimmung von Troponin T auch kritisch gesehen werden. Es wird angenommen, dass sich perioperativ auftretende Myokardinfarkte bezüglich Ätiologie und Pathophysiologie stark von konventionellen Myokardinfarkten unterscheiden (Roggenbach, Böttiger et al. 2009). So diskutieren manche Autoren, dass es, bedingt durch operations- und narkoseassoziierten Stress, beim perioperativen Myokardinfarkt zu einem Missverhältnis zwischen Sauerstoffangebot und Sauerstoffbedarf kommt und nicht die Ruptur eines atherosklerotischen Plaques für den Infarkt verantwortlich ist (Wartier, Pagel et al. 2000, Roggenbach, Böttiger et al. 2009). Dies würde auch erklären, weshalb die Mehrzahl der Patienten, die postoperativ ein erhöhtes Troponin T aufweisen keinerlei ischämische Symptome zeigen. Hinzu kommt, dass Troponine zwar herzspezifisch sind, aber u.a. auch bei vielen weiteren Erkrankungen, wie z.B. Lungenembolie, Myokarditis oder Niereninsuffizienz erhöht nachweisbar sein können (Roggenbach, Böttiger et al. 2009). Gerade die Niereninsuffizienz wurde als Störfaktor bei der Bewertung perioperativ erhöhter Troponinspiegel häufig nicht beachtet (Godet, Dumerat et al. 2000, Kim, Martinez et al. 2002, Lucreziotti, Foroni et al. 2002, Roggenbach, Böttiger et al. 2009). Die Diagnosestellung eines Myokardinfarktes, lediglich beruhend auf erhöhtem Troponin T ohne klinische Symptome einer Ischämie oder elektrokardiographisches Korrelat scheint folglich fraglich. Wegen der geringen

Spezifität für einen perioperativen Myokardinfarkt wird deshalb in den Leitlinien der ACC/AHA von einer routinemäßigen Bestimmung des Troponins zur Diagnose eines postoperativen Myokardinfarktes abgeraten (Fleisher, Beckman et al. 2007).

#### **4.6 Assoziation zwischen modMACE und IPF**

In unserer Studie fand sich kein Unterschied bei präoperativ gemessener IPF zwischen Patienten mit und ohne postoperative modMACE. Jedoch zeigten wir zum ersten Mal, dass insbesondere der postoperative Anstieg von IPF als Ausdruck des intraoperativen Verlaufs von prognostischer Relevanz bezüglich der kardialen und thromboembolischen Risikostratifikation zu sein scheint. Somit könnte ein postoperativ erhöhter IPF-Wert als nützlicher Biomarker dienen, der, ähnlich dem Surgical Apgar Score, insbesondere intraoperative schädliche Ereignisse repräsentiert und nicht die Nachteile der postoperativen Bestimmung von Troponin T aufweist.

#### **4.7 Multivariate Cox Regressionsanalyse und CART**

Die multivariate Regressionsanalyse identifizierte neben bekannten Risikofaktoren wie ausgeprägten intraoperativen Blutverlusten (dargestellt durch einen erniedrigten Hämoglobinwert im Aufwachraum und durch intraoperative Transfusionen von Erythrozytenkonzentraten) sowie den Komorbiditäten der Patienten (beschrieben durch den ASA Physical Status) auch IPF als unabhängigen Vorhersagewert. Die CART-Analyse (classification and regression trees) bestätigte sogar IPF als Prädiktor, da IPF ein erhöhtes Risiko für modMACE bei Patienten ohne größere Blutverluste oder Transfusionen vorhersagen kann.

## **4.8 Perioperative Blutverluste und Transfusionen als Risikofaktoren**

Perioperative Blutverluste an sich (Kamel, Johnston et al. 2012) und speziell auch Transfusionen sind bekannte Risikofaktoren für schwere postoperative Komplikationen, was in multiplen Studien und Reviews bestätigt wurde (Bernard, Davenport et al. 2009, Glance, Dick et al. 2011, Sabaté, Mases et al. 2011, Kamel, Johnston et al. 2012, Hollis, Singletary et al. 2016, Smilowitz, Oberweis et al. 2016). Wir konnten in unserer Studie zeigen, dass IPF auch bei Patienten ohne perioperative Blutverluste ein Prädiktor für modMACE ist. Intraoperative Transfusionen stellen eine Folge intraoperativer Blutverluste dar. Es ist möglich, dass die Blutverluste und nicht die Transfusionen selbst für ein schlechteres Outcome bei Patientenkohorten, die Transfusionen erhielten, verantwortlich sind (Dutton and Carson 2006, Glance, Dick et al. 2011). Andererseits zeigt sich in vielen Studien, dass Transfusionen von Erythrozytenkonzentraten eine geringe therapeutische Breite aufweisen (Smilowitz, Oberweis et al. 2016), häufig keinen positiven Effekt besitzen und sogar einen unabhängigen Risikofaktor für einen perioperativen Schlaganfall, Herzinfarkt und Versterben darstellen (Glance, Dick et al. 2011). Der negative Effekt ist umso ausgeprägter, je höher der präoperative Hämoglobinwert ist. Bei präoperativ bereits anämien Patienten zeigt sich weder ein positiver, noch ein negativer Effekt (Smilowitz, Oberweis et al. 2016). Eventuell sollte deshalb über eine restriktivere Indikationsstellung zur Erythrozytentransfusion nachgedacht werden. Die Mechanismen hierfür werden intensiv beforscht. Transfusionen führen, bedingt durch Infusion von Zytokinen und allogenen Leukozyten, zu einer gesteigerten Entzündungsreaktion und Immunsuppression bzw. Immunmodulation (Vamvakas and Blajchman 2001, Vamvakas 2007). Weiterhin wird angenommen, dass Transfusionen auch eine verstärkte Plättchenaggregation bedingen (Silvain, Abtan et al. 2014).

## 4.9 Möglicher Nutzen von IPF

Ein Vorteil von IPF ist, vor allem gegenüber komplizierten Scores wie dem APACHE- oder POSSUM-Score, dass IPF bereits in der frühen postoperativen Periode, d.h. während der Zeit im Aufwachraum, erhöht war und somit, ähnlich dem Surgical Apgar Score, eine frühe Abschätzung des postoperativen Risikos möglich ist. Dies kann auf vielfache Art und Weise nützlich sein. Zum Beispiel kann man so diejenigen Patienten herausfiltern, die eine intensivere postoperative Überwachung oder weitere diagnostische Maßnahmen benötigen. Weiterhin könnte beim Übergabeprozess zur Verlegung auf die Station den Mitarbeitern der Pflege und eines interdisziplinären Teams ein leicht verständlicher Indikator für ein erhöhtes postoperatives Risiko für Komplikationen bei bestimmten Patienten übermittelt werden. Ähnliche Vorteile werden auch für den Surgical Apgar Score diskutiert (Gawande, Kwaan et al. 2007, Regenbogen, Ehrenfeld et al. 2009, Reynolds, Sanders et al. 2011). Außerdem wird zu dieser Zeit die Entscheidung getroffen, ob ein Patient auf eine normale Station verlegt werden kann oder auf die Intensivstation verlegt werden sollte. Dies ist von herausragendem Interesse, da 73% der chirurgischen Patienten, die postoperativ im Krankenhaus versterben, nie auf eine Intensivstation verlegt wurden (Pearse, Moreno et al. 2012). Basierend auf unseren Ergebnissen kann man eine intensiviertere postoperative Überwachung einerseits bei Patienten mit ausgeprägten intraoperativen Blutverlusten und andererseits bei Patienten ohne ausgeprägte Blutverluste, aber mit erhöhter IPF, empfehlen. Ob diese Herangehensweise tatsächlich das postoperative Outcome verbessert, muss noch in größeren Studien geklärt werden.

#### 4.10 Mögliche Ursachen der Assoziation zwischen IPF und modMACE

Die Assoziation zwischen erhöhten IPF und modMACE ist bei chirurgischen Patienten höchstwahrscheinlich multifaktoriell bedingt. In unserer Kohorte sind starke intraoperative Blutverluste unabhängig von erhöhter IPF mit einem gesteigerten Risiko für modMACE assoziiert. Allerdings repräsentiert IPF bei Patienten ohne ausgeprägte intraoperative Blutverluste einen unabhängigen Prädiktor für postoperative Komplikationen. In dieser Subpopulation liegt der Cut-Off-Punkt höher als in der Gesamtkohorte (7.9% vs. 5.4%). Es ist wichtig zu bemerken, dass beide Cut-Off-Punkte, die bei unseren chirurgischen Patienten gemessen wurden, höher sind als der identifizierte Cut-Off-Punkt bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom (3.3%) (Cesari, Marcucci et al. 2013). Dies ist höchstwahrscheinlich Folge einer ausgeprägten Stimulation der Thrombopoese durch Entzündungsreaktionen und Blutverluste.

Die genauen Mechanismen, die zu einer Erhöhung des IPF-Wertes nach größeren Operationen führen, sind bislang unbekannt. Die Zusammenhänge werden jedoch zunehmend beforscht. Drei Faktoren lassen sich beschreiben:

1. Es ist seit mehreren Jahren bekannt, dass die Anzahl der peripher zirkulierenden Thrombozyten zunehmen kann, wenn der Körper erheblichem äußerlichem oder innerem Stress ausgesetzt ist (Biljak, Pancirov et al. 2011, Gramotnev and Gramotnev 2011). Die hierfür verantwortlichen Mechanismen sind noch nicht gänzlich verstanden (Chen, Du et al. 2016). Kürzlich konnte jedoch in mehreren Studien eine ausgeprägte sympathische Innervation des Knochenmarkes nachgewiesen werden (Katayama, Battista et al. 2006, Heidt, Sager et al. 2014).

Sympathischer Stress, wie er zum Beispiel im Rahmen von Operationen auftritt (Desborough 2000), scheint einen großen Einfluss auf die Thrombopoese, die Adhäsion und Migration von Megakaryozyten sowie die Bildung von Prothrombozyten auszuüben (Chen, Du et al. 2016). Weiterhin ist bekannt, dass sowohl physischer als auch psychischer Stress die Funktion und Anzahl der Thrombozyten insbesondere bei Patienten mit Herz-Kreislaufkrankungen erhöht (Grignani, Soffiantino et al. 1991, Steptoe and Kivimaki 2012). Dieses Geschehen erhöht wiederum das Risiko für Atherothrombose und ist stark mit vermehrten Herz-Kreislaufkrankungen assoziiert (Thaulow, Erikssen et al. 1991, Murphy, Bijl et al. 2013). Folglich ist denkbar, dass der durch die Operation verursachte Stress die Thrombozytenproduktion anregt und für eine erhöhte IPF verantwortlich ist.

2. Ein durch eine Operation verursachtes schweres Trauma führt potentiell im Rahmen von starken Blutverlusten und Koagulation zu einem beschleunigten Umsatz von Thrombozyten. In einer Studie an polytraumatisierten Patienten zeigte sich bei initial verminderten Thrombozyten nach Blutverlusten eine massive Gegenregulation des Körpers mit Thrombopoietin, dem primären Regulator des Thrombozytenumsatzes (Hobisch-Hagen, Jelkmann et al. 2000). Sind zum Beispiel nach einer Operation die retikulären Thrombozyten erhöht, so bedeutet das folglich eine vermehrte Stimulation der Megakaryozyten durch Thrombopoietin und damit einen erhöhten Thrombozytenumsatz (Ault, Rinder et al. 1992).

3. Chirurgische Eingriffe verursachen eine gesteigerte systemische Entzündungsreaktion. Dies führt zur Sekretion einer Vielzahl von Hormonen und Entzündungsmediatoren. Eine erhöhte Ausschüttung von Kortikotropin bewirkt eine vermehrte Produktion proinflammatorischer Zytokine wie zum Beispiel Tumornekrosefaktor-Alpha, Interleukin-1beta, Interleukin 8, Interleukin 12, Interleukin 18 und insbesondere Interleukin 6 (IL-6) (Desborough 2000, Marik and Flemmer 2012, Dinarello, Novick et al. 2013). IL-6 führt daraufhin zur Akute-Phase-Reaktion und damit zur Produktion von Akute-Phase-Proteinen in der Leber (Bauer and Herrmann 1991, Baigrie, Lamont et al. 1992, Gabay and Kushner 1999). Die Akute-Phase-Reaktion besteht unter anderem aus Fieber, Granulozytose, Produktion von C-reaktivem Protein, Fibrinogen und erhöhten Serumkonzentrationen von Transportproteinen (Sheeran and Hall 1997). Diese gesteigerte Entzündungsreaktion steht wiederum in Zusammenhang sowohl mit einer vermehrten Produktion als auch Aktivierung von Thrombozyten (Peng, Friese et al. 1996, Larsen, Grove et al. 2015). Gerade IL-6 scheint dabei eine Rolle zu spielen. IL-6 erhöht einerseits die durchschnittliche Größe und Funktion der Thrombozyten (Burstein, Downs et al. 1992, Peng, Friese et al. 1994) und andererseits die Produktionsrate (Hill, Warren et al. 1990). Man nimmt an, dass die gesteigerte Funktion der Thrombozyten eher die Folge einer vermehrten Produktion unreifer und hämostatisch aktiverer Thrombozyten ist als einer spezifischen Interaktion mit IL-6 (Peng, Friese et al. 1994).

Nach Operationen werden die Höchstwerte für IL-6 nach 12-24 gemessen (Watt, Horgan et al. 2015); dies ist auch das Intervall, in dem IPF in unserer Studie postoperativ gemessen wurde. Eine Untersuchung zeigte, dass zirkulierendes

IL-6 48-72h Stunden nach einer Operation bei Patienten ohne postoperative Komplikationen im Vergleich zu solchen mit postoperativen Komplikationen stark vermindert war (Baigrie, Lamont et al. 1992). Außerdem sind erhöhte Werte an IL-6 in mehreren Studien mit einem gesteigerten kardiovaskulären Risiko und einer Progression der atherosklerotischen Veränderungen assoziiert (Harris, Ferrucci et al. 1999, Ridker, Rifai et al. 2000, Ikeda, Ito et al. 2001, Volpato, Guralnik et al. 2001). Leider wurden in unserer Studie CRP und IL-6 nicht gemessen. Ein etwaiger Zusammenhang zwischen der perioperativen Entzündungsreaktion und einer erhöhten IPF müsste in weiteren Studien untersucht werden.

Die Frage, ob für die von uns empirisch gemessene Assoziation zwischen postoperativ erhöhter IPF und einem erhöhten Risiko für modMACE auch ein kausaler Zusammenhang besteht, kann man bis jetzt nicht eindeutig beantworten. In Anbetracht der Literatur lässt sich jedoch vermuten, dass IPF bei der Entwicklung postoperativer thromboembolischer Komplikationen zumindest teilweise eine Rolle spielen. RP sind metabolisch aktiver und zeichnen sich durch eine erhöhte prothrombotische Aktivität aus (Hirsh, Glynn et al. 1968). Darüber hinaus sind RP mit einer erhöhten Resistenz gegen Thrombozytenaggregationshemmer wie zum Beispiel Aspirin assoziiert. Es wird vermutet, dass dabei die irreversibel gehemmte Cyclooxygenase-1 durch neu gebildete ungehemmte RP ersetzt wird (Guthikonda, Lev et al. 2007). Folglich überrascht es nicht, dass RP insbesondere bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom (Lakkis, Dokainish et al. 2004, Grove, Hvas et al. 2009) bzw. Schlaganfall (McCabe, Harrison et al. 2004) erhöht waren. Wie schon beschrieben, herrscht gerade nach Operationen, bedingt durch adrenergen Stress, Blutverluste und systemische Entzündungsreaktionen,

ein Zustand erhöhter Thrombogenität. Es liegt folglich nahe, dass hierbei auch RP eine synergistische Rolle spielen könnten.

#### **4.11 Zusammenfassung**

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass postoperativ erhöhte retikuläre Thrombozyten mit einem gesteigerten Risiko für die Entwicklung schwerwiegender kardiovaskulärer bzw. thromboembolischer Ereignisse assoziiert waren. IPF ist ein einfach zu messender klinischer Parameter. Unser Ergebnis kann im klinischen Setting dazu beitragen, das postoperative Risiko von Patienten abzuschätzen.

#### **4.12 Einschränkungen der Studie:**

Die Fallzahl limitierte die Anzahl der Variablen, die wir untersuchen konnten, um IPF als Prädiktor für schwere Komplikationen zu bestätigen. IPF, gemessen im Aufwachraum, blieb jedoch trotzdem ein statistisch signifikanter Risikofaktor bei den meisten der 1000 analysierten Patienten (73.3%). Weiterhin untersuchten wir in unserer Studie nicht die Mechanismen, welche für die Assoziation zwischen IPF und vermehrten postoperativen Komplikationen verantwortlich sind. Insbesondere haben wir keine Entzündungsmarker (z.B. IL-6) oder andere etablierte Marker für die Abschätzung des kardialen Risikos (z.B. Troponin-T, NT-proBNP) gemessen, so dass sich hierüber nur spekulieren lässt. Für zukünftige Studien werden größere Fallzahlen benötigt, um den Cut-Off-Wert von IPF bei chirurgischen Patienten genauer zu spezifizieren und um die Eignung von IPF als Marker für thromboembolische Komplikationen auch für Hoch-Risiko-Patienten zu bestätigen. Des Weiteren sollten die zugrunde liegenden Mechanismen untersucht werden. Dennoch zeigt unsere Studie,

dass eine einzige Messung von IPF im Aufwachraum nützlich sein kann, um das Risiko für schwere kardiovaskuläre Komplikationen im postoperativen Setting abzuschätzen.

## 5 ZUSAMMENFASSUNG

**ZIELSETZUNG:** Diese Studie untersucht, ob retikuläre Thrombozyten, gemessen als IPF im Aufwachraum, schwere kardiovaskuläre und andere thromboembolische Komplikationen nach Operationen mit mittlerem bis hohem Risiko vorhersagen können.

**HINTERGRUND:** Es konnte gezeigt werden, dass IPF bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom erhöht ist. IPF gewann Interesse als neuer Biomarker zur Risikostratifikation.

**METHODEN:** In diese prospektiven Beobachtungsstudie wurden 732 Patienten eingeschlossen, die sich einer nicht-herzchirurgischen Operation mittleren bis hohen Risikos unterzogen (NCT02097602). IPF wurde präoperativ, im Aufwachraum und 24-72h postoperativ gemessen. Der primäre Endpunkt war ein Zusammenschluss aus MACE, TVT und LE während des Krankenhausaufenthalts (modMACE). Mittels Log-Rank Optimierung wurde ein Grenzwert für IPF identifiziert, der Patienten in Gruppen mit hohem und niedrigem Risiko für modMACE einteilt. Eine multivariate Cox Regression wurde mit Hilfe einer vorwärts schrittweise Methode berechnet, um die Beziehung zwischen diesem IPF Grenzwert, modMACE und anderen etablierten Risikofaktoren zu beurteilen (Einschluss, wenn  $p < 0.05$ ).

**ERGEBNISSE:** Präoperativ zeigte sich kein Unterschied zwischen Patienten mit und ohne modMACE (3.1% [2.2-4.7%](median) [Interquartilsabstand]) vs. 2.8% [1.9-4.3%]. Patienten mit modMACE (28 von 730 Patienten; 3,8%) hatten höhere IPF-Werte im Aufwachraum als Patienten ohne modMACE (3.6% [2.6-6%] vs. 2.9% [2-4.4%];

p=0.011). Der optimale IPF Grenzwert von  $IPF > 5.4\%$  war mit einem erhöhten Risiko für modMACE nach Berücksichtigung von Kovariaten assoziiert (Hazard Ratio: 2.528; 95% Konfidenzintervall: 1.156 bis 5.528, p=0.02).

**SCHLUSSFOLGERUNGEN:** IPF ist ein unabhängiger Prädiktor für modMACE nach chirurgischen Eingriffen und kann bei der Risikostratifikation chirurgischer Patienten hilfreich sein.

## 6 LITERATURVERZEICHNIS

Ackland, G. L., S. Harris, Y. Ziabari, M. Grocott and M. Mythen (2010). "Revised cardiac risk index and postoperative morbidity after elective orthopaedic surgery: a prospective cohort study." Br J Anaesth **105**(6): 744-752.

Akpinar, E. E., D. Hosgun, B. Akan, C. Ates and M. Gulhan (2013). "Does thromboprophylaxis prevent venous thromboembolism after major orthopedic surgery?" J Bras Pneumol **39**(3): 280-286.

Altman, D. G., B. Lausen, W. Sauerbrei and M. Schumacher (1994). "Dangers of using "optimal" cutpoints in the evaluation of prognostic factors." Journal of the National Cancer Institute **86**(11): 829-835.

American College of Surgeons. NSQIP Surgical Risk Calculator, 2017-03-18, URL:<http://riskcalculator.facs.org/RiskCalculator/PatientInfo.jsp>, Accessed: 2017-03-18. Archived by WebCite® at <http://www.webcitation.org/6p3NuTOeR>

American Society of Anaesthesiologists, ASA classification system, 2014-10-15. URL:<https://www.asahq.org/resources/clinical-information/asa-physical-status-classification-system>. Accessed: 2017-03-18. Archived by WebCite® at <http://www.webcitation.org/6p3IxovCt>

Anetsberger, A., M. Blobner, B. Haller, S. Schmid, K. Umgelter, T. Hager, C. Langgartner, E. F. Kochs, K. L. Laugwitz, B. Jungwirth and I. Bernlochner (2017). "Immature platelets as a novel biomarker for adverse cardiovascular events in patients after non-cardiac surgery." Thromb Haemost **117**(10): 1887-1895.

Ault, K., H. Rinder, J. Mitchell, M. Carmody, C. Vary and R. Hillman (1992). "The significance of platelets with increased RNA content (reticulated platelets). A measure of the rate of thrombopoiesis." American journal of clinical pathology **98**(6): 637-646.

Ault, K. A. and C. Knowles (1995). "In vivo biotinylation demonstrates that reticulated platelets are the youngest platelets in circulation." Exp Hematol **23**(9): 996-1001.

Aziz, F., M. Patel, G. Ortenzi and A. B. Reed (2015). "Incidence of Postoperative Deep Venous Thrombosis Is Higher among Cardiac and Vascular Surgery Patients as Compared with General Surgery Patients." Ann Vasc Surg **29**(4): 661-669.

Baigrie, R. J., P. M. Lamont, D. Kwiatkowski, M. J. Dallman and P. J. Morris (1992). "Systemic cytokine response after major surgery." Br J Surg **79**(8): 757-760.

Bauer, J. and F. Herrmann (1991). "Interleukin-6 in clinical medicine." Ann Hematol **62**(6): 203-210.

Bernard, A. C., D. L. Davenport, P. K. Chang, T. B. Vaughan and J. B. Zwischenberger (2009). "Intraoperative transfusion of 1 U to 2 U packed red blood cells is associated with increased 30-day mortality, surgical-site infection, pneumonia, and sepsis in general surgery patients." J Am Coll Surg **208**(5): 931-937, 937.e931-932; discussion 938-939.

Biccard, B. (2015). "Proposed research plan for the derivation of a new Cardiac Risk Index." Anesth Analg **120**(3): 543-553.

Bickler, S. W. and D. A. Spiegel (2008). "Global surgery--defining a research agenda." *Lancet* **372**(9633): 90-92.

Biljak, V. R., D. Pancirov, I. Cepelak, S. Popovic-Grle, G. Stjepanovic and T. Z. Grubisic (2011). "Platelet count, mean platelet volume and smoking status in stable chronic obstructive pulmonary disease." *Platelets* **22**(6): 466-470.

Boersma, E., M. D. Kertai, O. Schouten, J. J. Bax, P. Noordzij, E. W. Steyerberg, A. F. Schinkel, M. van Santen, M. L. Simoons, I. R. Thomson, J. Klein, H. van Urk and D. Poldermans (2005). "Perioperative cardiovascular mortality in noncardiac surgery: validation of the Lee cardiac risk index." *Am J Med* **118**(10): 1134-1141.

Botto, F., P. Alonso-Coello, M. T. Chan, J. C. Villar, D. Xavier, S. Srinathan, G. Guyatt, P. Cruz, M. Graham, C. Y. Wang, O. Berwanger, R. M. Pearse, B. M. Biccand, V. Abraham, G. Malaga, G. S. Hillis, R. N. Rodseth, D. Cook, C. A. Polanczyk, W. Szczeklik, D. I. Sessler, T. Sheth, G. L. Ackland, M. Leuwer, A. X. Garg, Y. Lemanach, S. Pettit, D. Heels-Ansdell, G. Luratibuse, M. Walsh, R. Sapsford, H. J. Schunemann, A. Kurz, S. Thomas, M. Mrkobrada, L. Thabane, H. Gerstein, P. Paniagua, P. Nagele, P. Raina, S. Yusuf, P. J. Devereaux, P. J. Devereaux, D. I. Sessler, M. Walsh, G. Guyatt, M. J. McQueen, M. Bhandari, D. Cook, J. Bosch, N. Buckley, S. Yusuf, C. K. Chow, G. S. Hillis, R. Halliwell, S. Li, V. W. Lee, J. Mooney, C. A. Polanczyk, M. V. Furtado, O. Berwanger, E. Suzumura, E. Santucci, K. Leite, J. A. Santo, C. A. Jardim, A. B. Cavalcanti, H. P. Guimaraes, M. J. Jacka, M. Graham, F. McAlister, S. McMurtry, D. Townsend, N. Pannu, S. Bagshaw, A. Bessissow, M. Bhandari, E. Duceppe, J. Eikelboom, J. Ganame, J. Hankinson, S. Hill, S. Jolly, A. Lamy, E. Ling, P. Magloire, G. Pare, D. Reddy, D. Szalay, J. Tittley, J. Weitz, R. Whitlock, S. Darvish-Kazim, J. Debeer, P. Kavsak, C. Kearon, R. Mizera, M. O'Donnell, M. McQueen, J. Pinthus, S. Ribas, M. Simunovic, V. Tandon, T. Vanhelder, M. Winemaker, H. Gerstein, S. McDonald, P. O'Bryne, A. Patel, J. Paul, Z. Punthakee, K. Raymer, O. Salehian, F. Spencer, S. Walter, A. Worster, A. Adili, C. Clase, D. Cook, M. Crowther, J. Douketis, A. Gangji, P. Jackson, W. Lim, P. Lovrics, S. Mazzadi, W. Orovan, J. Rudkowski, M. Soth, M. Tiboni, R. Acedillo, A. Garg, A. Hildebrand, N. Lam, D. Macneil, M. Mrkobrada, P. S. Roshanov, S. K. Srinathan, C. Ramsey, P. S. John, L. Thorlacius, F. S. Siddiqui, H. P. Grocott, A. McKay, T. W. Lee, R. Amadeo, D. Funk, H. McDonald, J. Zacharias, J. C. Villar, O. L. Cortes, M. S. Chaparro, S. Vasquez, A. Castaneda, S. Ferreira, P. Coriat, D. Monneret, J. P. Goarin, C. I. Esteve, C. Royer, G. Daas, M. T. Chan, G. Y. Choi, T. Gin, L. C. Lit, D. Xavier, A. Sigamani, A. Faruqui, R. Dhanpal, S. Almeida, J. Cherian, S. Furrugh, V. Abraham, L. Afzal, P. George, S. Mala, H. Schunemann, P. Muti, E. Vizza, C. Y. Wang, G. S. Ong, M. Mansor, A. S. Tan, Shariffuddin, II, V. Vasanthan, N. H. Hashim, A. W. Undok, U. Ki, H. Y. Lai, W. A. Ahmad, A. H. Razack, G. Malaga, V. Valderrama-Victoria, J. D. Loza-Herrera, M. De Los Angeles Lazo, A. Rotta-Rotta, W. Szczeklik, B. Sokolowska, J. Musial, J. Gorka, P. Iwaszczuk, M. Kozka, M. Chwała, M. Raczek, T. Mrowiecki, B. Kaczmarek, B. Biccand, H. Cassimjee, D. Gopalan, T. Kisten, A. Mugabi, P. Naidoo, R. Naidoo, R. Rodseth, D. Skinner, A. Torborg, P. Paniagua, G. Urrutia, M. L. Maestre, M. Santalo, R. Gonzalez, A. Font, C. Martinez, X. Pelaez, M. De Antonio, J. M. Villamor, J. A. Garcia, M. J. Ferre, E. Popova, P. Alonso-Coello, I. Garutti, P. Cruz, C. Fernandez, M. Palencia, S. Diaz, T. Del Castillo, A. Varela, A. de Miguel, M. Munoz, P. Pineiro, G. Cusati, M. Del Barrio, M. J. Membrillo, D. Orozco, F. Reyes, R. J. Sapsford, J. Barth, J. Scott, A. Hall, S. Howell, M. Lobley, J. Woods, S. Howard, J. Fletcher, N. Dewhirst, C. Williams, A. Rushton, I. Welters, M. Leuwer, R. Pearse, G. Ackland, A. Khan, E. Niebrzegowska, S. Benton, A. Wragg, A. Archbold, A. Smith, E. McAlees, C. Ramballi, N. Macdonald, M. Januszewska, R. Stephens, A. Reyes, L. G. Paredes, P. Sultan, D. Cain, J. Whittle, A. G. Del Arroyo, D. I. Sessler, A. Kurz, Z. Sun, P. S. Finnegan, C. Egan, H. Honar, A. Shahinyan, K. Panjasawatwong, A. Y. Fu, S. Wang, E. Reineks, P. Nagele, J. Blood, M. Kalin, D. Gibson and T. Wildes (2014). "Myocardial injury after noncardiac surgery: a large, international, prospective cohort study establishing diagnostic criteria, characteristics, predictors, and 30-day outcomes." *Anesthesiology* **120**(3): 564-578.

Breiman, L., J. Friedman, C. J. Stone and R. A. Olshen (1984). Classification and Regression Trees, Taylor & Francis.

Briggs, C., S. Kunka, D. Hart, S. Oguni and S. J. Machin (2004). "Assessment of an immature platelet fraction (IPF) in peripheral thrombocytopenia." Br J Haematol **126**(1): 93-99.

Burstein, S. A., T. Downs, P. Friese, S. Lynam, S. Anderson, J. Henthorn, R. B. Epstein and K. Savage (1992). "Thrombocytopoiesis in normal and sublethally irradiated dogs: response to human interleukin-6." Blood **80**(2): 420-428.

Canet, J., L. Gallart, C. Gomar, G. Paluzie, J. Valles, J. Castillo, S. Sabate, V. Mazo, Z. Briones and J. Sanchis (2010). "Prediction of postoperative pulmonary complications in a population-based surgical cohort." Anesthesiology **113**(6): 1338-1350.

Cesari, F., R. Marcucci, A. M. Gori, R. Caporale, A. Fanelli, G. Casola, D. Balzi, A. Barchielli, S. Valente, C. Giglioli, G. F. Gensini and R. Abbate (2013). "Reticulated platelets predict cardiovascular death in acute coronary syndrome patients. Insights from the AMI-Florence 2 Study." Thrombosis and Haemostasis **109**(5): 846-853.

Cesari, F., R. Marcucci, A. M. Gori, R. Caporale, A. Fanelli, G. Casola, D. Balzi, A. Barchielli, S. Valente, C. Giglioli, G. F. Gensini and R. Abbate (2013). "Reticulated platelets predict cardiovascular death in acute coronary syndrome patients. Insights from the AMI-Florence 2 Study." Thromb Haemost **109**(5): 846-853.

Chaoui, D., T. Chakroun, F. Robert, B. Rio, R. Belhocine, O. Legrand, C. Salanoubat, C. Lecrubier, N. Casadevall, J. P. Marie and I. Elalamy (2005). "Reticulated platelets: a reliable measure to reduce prophylactic platelet transfusions after intensive chemotherapy." Transfusion **45**(5): 766-772.

Charlson, M. E., C. R. MacKenzie, J. P. Gold, K. L. Ales, M. Topkins and G. T. Shires (1990). "Intraoperative blood pressure. What patterns identify patients at risk for postoperative complications?" Ann Surg **212**(5): 567-580.

Chen, S., C. Du, M. Shen, G. Zhao, Y. Xu, K. Yang, X. Wang, F. Li, D. Zeng, F. Chen, S. Wang, M. Chen, C. Wang, T. He, F. Wang, A. Wang, T. Cheng, Y. Su, J. Zhao and J. Wang (2016). "Sympathetic stimulation facilitates thrombopoiesis by promoting megakaryocyte adhesion, migration, and proplatelet formation." Blood **127**(8): 1024-1035.

Copeland, G. P., D. Jones and M. Walters (1991). "POSSUM: a scoring system for surgical audit." Br J Surg **78**(3): 355-360.

Cotton, J. M., Y. Hong, E. Hawe, A. Mathur, S. E. Humphries, A. S. Brown, J. F. Martin and J. D. Erusalimsky (2003). "Rise of circulating thrombopoietin following cardiothoracic surgery is potentiated in patients with coronary atherosclerosis: correlation with a preceding increase in levels of interleukin-6." Thromb Haemost **89**(3): 538-543.

Dale, G. L., P. Friese, L. A. Hynes and S. A. Burstein (1995). "Demonstration that thiazole-orange-positive platelets in the dog are less than 24 hours old." Blood **85**(7): 1822-1825.

Davenport, D. L., V. A. Ferraris, P. Hosokawa, W. G. Henderson, S. F. Khuri and R. M. Mentzer, Jr. (2007). "Multivariable predictors of postoperative cardiac adverse events after general and vascular surgery: results from the patient safety in surgery study." J Am Coll Surg **204**(6): 1199-1210.

Davis, C., G. Tait, J. Carroll, D. N. Wijeyesundera and W. S. Beattie (2013). "The Revised Cardiac Risk Index in the new millennium: a single-centre prospective cohort re-evaluation of the original variables in 9,519 consecutive elective surgical patients." *Can J Anaesth* **60**(9): 855-863.

Desborough, J. P. (2000). "The stress response to trauma and surgery." *Br J Anaesth* **85**(1): 109-117.

Devereaux (2008). "Effects of extended-release metoprolol succinate in patients undergoing non-cardiac surgery (POISE trial): a randomised controlled trial." *The Lancet* **371**(9627): 1839-1847.

Devereaux (2012). "Association between postoperative troponin levels and 30-day mortality among patients undergoing noncardiac surgery." *JAMA* **307**(21): 2295-2304.

Devereaux, P. J., B. M. Biccand, A. Sigamani, D. Xavier, M. T. V. Chan, S. K. Srinathan, M. Walsh, V. Abraham, R. Pearse, C. Y. Wang, D. I. Sessler, A. Kurz, W. Szczeklik, O. Berwanger, J. C. Villar, G. Malaga, A. X. Garg, C. K. Chow, G. Ackland, A. Patel, F. K. Borges, E. P. Belley-Cote, E. Duceppe, J. Spence, V. Tandon, C. Williams, R. J. Sapsford, C. A. Polanczyk, M. Tiboni, P. Alonso-Coello, A. Faruqui, D. Heels-Ansdell, A. Lamy, R. Whitlock, Y. LeManach, P. S. Roshanov, M. McGillion, P. Kavsak, M. J. McQueen, L. Thabane, R. N. Rodseth, G. A. L. Buse, M. Bhandari, I. Garutti, M. J. Jacka, H. J. Schunemann, O. L. Cortes, P. Coriat, N. Dvirnik, F. Botto, S. Pettit, A. S. Jaffe and G. H. Guyatt (2017). "Association of Postoperative High-Sensitivity Troponin Levels With Myocardial Injury and 30-Day Mortality Among Patients Undergoing Noncardiac Surgery." *Jama* **317**(16): 1642-1651.

Devereaux, P. J., D. Bradley, M. T. Chan, M. Walsh, J. C. Villar, C. A. Polanczyk, B. G. Seligman, G. H. Guyatt, P. Alonso-Coello, O. Berwanger, D. Heels-Ansdell, N. Simunovic, H. Schunemann and S. Yusuf (2011). "An international prospective cohort study evaluating major vascular complications among patients undergoing noncardiac surgery: the VISION Pilot Study." *Open Med* **5**(4): e193-200.

Devereaux, P. J., M. Chan and J. Eikelboom (2010). Major Vascular Complications in Patients Undergoing Non-Cardiac Surgery: Magnitude of the Problem, Risk Prediction, Surveillance, and Prevention. *Evidence-Based Cardiology*, Wiley-Blackwell: 47-62.

Devereaux, P. J., M. T. Chan, P. Alonso-Coello, M. Walsh, O. Berwanger, J. C. Villar, C. Y. Wang, R. I. Garutti, M. J. Jacka, A. Sigamani, S. Srinathan, B. M. Biccand, C. K. Chow, V. Abraham, M. Tiboni, S. Pettit, W. Szczeklik, G. Lurati Buse, F. Botto, G. Guyatt, D. Heels-Ansdell, D. I. Sessler, K. Thorlund, A. X. Garg, M. Mrkobrada, S. Thomas, R. N. Rodseth, R. M. Pearse, L. Thabane, M. J. McQueen, T. VanHelder, M. Bhandari, J. Bosch, A. Kurz, C. Polanczyk, G. Malaga, P. Nagele, Y. Le Manach, M. Leuwer and S. Yusuf (2012). "Association between postoperative troponin levels and 30-day mortality among patients undergoing noncardiac surgery." *Jama* **307**(21): 2295-2304.

Devereaux, P. J. and D. I. Sessler (2015). "Cardiac Complications in Patients Undergoing Major Noncardiac Surgery." *N Engl J Med* **373**(23): 2258-2269.

Devereaux, P. J., D. Xavier, J. Pogue, G. Guyatt, A. Sigamani, I. Garutti, K. Leslie, P. Rao-Melacini, S. Chrolavicius, H. Yang, C. Macdonald, A. Avezum, L. Lanthier, W. Hu and S. Yusuf (2011). "Characteristics and short-term prognosis of perioperative myocardial infarction in patients undergoing noncardiac surgery: a cohort study." *Ann Intern Med* **154**(8): 523-528.

Dinarelli, C. A., D. Novick, S. Kim and G. Kaplanski (2013). "Interleukin-18 and IL-18 binding protein." *Front Immunol* **4**: 289.

Dutton, R. P. and J. L. Carson (2006). "Indications for early red blood cell transfusion." J Trauma **60**(6 Suppl): S35-40.

Eagle, K. A., P. B. Berger, H. Calkins, B. R. Chaitman, G. A. Ewy, K. E. Fleischmann, L. A. Fleisher, J. B. Froehlich, R. J. Gusberg, J. A. Leppo, T. Ryan, R. C. Schlant, W. L. Winters, Jr., R. J. Gibbons, E. M. Antman, J. S. Alpert, D. P. Faxon, V. Fuster, G. Gregoratos, A. K. Jacobs, L. F. Hiratzka, R. O. Russell and S. C. Smith, Jr. (2002). "ACC/AHA Guideline Update for Perioperative Cardiovascular Evaluation for Noncardiac Surgery--Executive Summary. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee to Update the 1996 Guidelines on Perioperative Cardiovascular Evaluation for Noncardiac Surgery)." Anesth Analg **94**(5): 1052-1064.

Eikelboom, J. W. and T. E. Warkentin (2014). "Immature platelet count: part of the cardiologist's complete blood count?" J Am Coll Cardiol **64**(20): 2130-2132.

Ekeloef, S., M. Alamili, P. J. Devereaux and I. Gogenur (2016). "Troponin elevations after non-cardiac, non-vascular surgery are predictive of major adverse cardiac events and mortality: a systematic review and meta-analysis." Br J Anaesth **117**(5): 559-568.

Fleisher, L. A., J. A. Beckman, K. A. Brown, H. Calkins, E. Chaikof, K. E. Fleischmann, W. K. Freeman, J. B. Froehlich, E. K. Kasper, J. R. Kersten, B. Riegel, J. F. Robb, S. C. Smith, Jr., A. K. Jacobs, C. D. Adams, J. L. Anderson, E. M. Antman, C. E. Buller, M. A. Creager, S. M. Ettinger, D. P. Faxon, V. Fuster, J. L. Halperin, L. F. Hiratzka, S. A. Hunt, B. W. Lytle, R. Nishimura, J. P. Ornato, R. L. Page, L. G. Tarkington and C. W. Yancy (2007). "ACC/AHA 2007 guidelines on perioperative cardiovascular evaluation and care for noncardiac surgery: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 2002 Guidelines on Perioperative Cardiovascular Evaluation for Noncardiac Surgery): developed in collaboration with the American Society of Echocardiography, American Society of Nuclear Cardiology, Heart Rhythm Society, Society of Cardiovascular Anesthesiologists, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society for Vascular Medicine and Biology, and Society for Vascular Surgery." Circulation **116**(17): e418-499.

Fleisher, L. A., K. E. Fleischmann, A. D. Auerbach, S. A. Barnason, J. A. Beckman, B. Bozkurt, V. G. Davila-Roman, M. D. Gerhard-Herman, T. A. Holly, G. C. Kane, J. E. Marine, M. T. Nelson, C. C. Spencer, A. Thompson, H. H. Ting, B. F. Uretsky and D. N. Wijeyesundera (2014). "2014 ACC/AHA guideline on perioperative cardiovascular evaluation and management of patients undergoing noncardiac surgery: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on practice guidelines." J Am Coll Cardiol **64**(22): e77-137.  
Fleisher, L. A. and H. P. Lehmann (1995). "Preoperative cardiac evaluation and perioperative monitoring for noncardiac vascular surgery." Jama **274**(21): 1671-1672.

Ford, M. K., W. S. Beattie and D. N. Wijeyesundera (2010). "Systematic review: prediction of perioperative cardiac complications and mortality by the revised cardiac risk index." Ann Intern Med **152**(1): 26-35.

Gabay, C. and I. Kushner (1999). "Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation." N Engl J Med **340**(6): 448-454.

Gangireddy, C., J. R. Rectenwald, G. R. Upchurch, T. W. Wakefield, S. Khuri, W. G. Henderson and P. K. Henke (2007). "Risk factors and clinical impact of postoperative symptomatic venous thromboembolism." Journal of Vascular Surgery **45**(2): 335-342.e331.

- Gawande, A. A., M. R. Kwaan, S. E. Regenbogen, S. A. Lipsitz and M. J. Zinner (2007). "An Apgar score for surgery." J Am Coll Surg **204**(2): 201-208.
- Gawaz, M., H. Langer and A. E. May (2005). "Platelets in inflammation and atherogenesis." J Clin Invest **115**(12): 3378-3384.
- Glance, L. G., A. W. Dick, D. B. Mukamel, F. J. Fleming, R. A. Zollo, R. Wissler, R. Salloum, U. W. Meredith and T. M. Osler (2011). "Association between intraoperative blood transfusion and mortality and morbidity in patients undergoing noncardiac surgery." Anesthesiology **114**(2): 283-292.
- Godet, G., M. Dumerat, C. Baillard, S. Ben Ayed, M. A. Bernard, M. Bertrand, E. Kieffer and P. Coriat (2000). "Cardiac troponin I is reliable with immediate but not medium-term cardiac complications after abdominal aortic repair." Acta Anaesthesiol Scand **44**(5): 592-597.
- Goldman, L., D. L. Caldera, S. R. Nussbaum, F. S. Southwick, D. Krogstad, B. Murray, D. S. Burke, T. A. O'Malley, A. H. Goroll, C. H. Caplan, J. Nolan, B. Carabello and E. E. Slater (1977). "Multifactorial index of cardiac risk in noncardiac surgical procedures." N Engl J Med **297**(16): 845-850.
- Gonzalez-Porras, J. R., F. Martin-Herrero, T. J. Gonzalez-Lopez, J. Olazabal, M. Diez-Campelo, P. Pabon, I. Alberca and J. F. San Miguel (2010). "The role of immature platelet fraction in acute coronary syndrome." Thrombosis and Haemostasis **103**(1): 247-249.
- Gramotnev, D. K. and G. Gramotnev (2011). "Psychological stress and psychosomatic treatment: major impact on serious blood disorders?" Neuroimmunomodulation **18**(3): 171-183.
- Grignani, G., F. Soffiantino, M. Zucchella, L. Pacchiarini, F. Tacconi, E. Bonomi, A. Pastoris, A. Sbaffi, P. Fratino and L. Tavazzi (1991). "Platelet activation by emotional stress in patients with coronary artery disease." Circulation **83**(4 Suppl): li128-136.
- Grove, E. L., A.-M. Hvas and S. D. Kristensen (2009). "Immature platelets in patients with acute coronary syndromes." Thrombosis and Haemostasis **101**(1): 151-156.
- Grove, E. L., A. M. Hvas, S. B. Mortensen, S. B. Larsen and S. D. Kristensen (2011). "Effect of platelet turnover on whole blood platelet aggregation in patients with coronary artery disease." Journal of Thrombosis and Haemostasis **9**(1): 185-191.
- Gupta, P. K., H. Gupta, A. Sundaram, M. Kaushik, X. Fang, W. J. Miller, D. J. Esterbrooks, C. B. Hunter, Pipinos, II, J. M. Johanning, T. G. Lynch, R. A. Forse, S. M. Mohiuddin and A. N. Mooss (2011). "Development and validation of a risk calculator for prediction of cardiac risk after surgery." Circulation **124**(4): 381-387.
- Guthikonda, S., C. L. Alviar, M. Vaduganathan, M. Arikani, A. Tellez, T. DeLao, J. F. Granada, J.-F. Dong, N. S. Kleiman and E. I. Lev (2008). "Role of Reticulated Platelets and Platelet Size Heterogeneity on Platelet Activity After Dual Antiplatelet Therapy With Aspirin and Clopidogrel in Patients With Stable Coronary Artery Disease." Journal of the American College of Cardiology **52**(9): 743-749.
- Guthikonda, S., E. I. Lev, R. Patel, T. DeLao, A. L. Bergeron, J. F. Dong and N. S. Kleiman (2007). "Reticulated platelets and uninhibited COX-1 and COX-2 decrease the antiplatelet effects of aspirin." J Thromb Haemost **5**(3): 490-496.

Hackett, N. J., G. S. De Oliveira, U. K. Jain and J. Y. Kim (2015). "ASA class is a reliable independent predictor of medical complications and mortality following surgery." Int J Surg **18**: 184-190.

Harris, T. B., L. Ferrucci, R. P. Tracy, M. C. Corti, S. Wacholder, W. H. Ettinger, Jr., H. Heimovitz, H. J. Cohen and R. Wallace (1999). "Associations of elevated interleukin-6 and C-reactive protein levels with mortality in the elderly." Am J Med **106**(5): 506-512.

Harrison, P. and A. H. Goodall (2008). "'Message in the Platelet' – more than just vestigial mRNA!" Platelets **19**(6): 395-404.

Haynes, A. B., S. E. Regenbogen, T. G. Weiser, S. R. Lipsitz, G. Dziekan, W. R. Berry and A. A. Gawande (2011). "Surgical outcome measurement for a global patient population: validation of the Surgical Apgar Score in 8 countries." Surgery **149**(4): 519-524.

Heidt, T., H. B. Sager, G. Courties, P. Dutta, Y. Iwamoto, A. Zaltsman, C. von Zur Muhlen, C. Bode, G. L. Fricchione, J. Denninger, C. P. Lin, C. Vinegoni, P. Libby, F. K. Swirski, R. Weissleder and M. Nahrendorf (2014). "Chronic variable stress activates hematopoietic stem cells." Nat Med **20**(7): 754-758.

Heit, J. A. (2005). "Venous thromboembolism: disease burden, outcomes and risk factors." J Thromb Haemost **3**(8): 1611-1617.

Heit, J. A., M. D. Silverstein, D. N. Mohr, T. M. Petterson, C. M. Lohse, W. M. O'Fallon and L. J. Melton, 3rd (2001). "The epidemiology of venous thromboembolism in the community." Thromb Haemost **86**(1): 452-463.

Hill, R. J., M. K. Warren and J. Levin (1990). "Stimulation of thrombopoiesis in mice by human recombinant interleukin 6." J Clin Invest **85**(4): 1242-1247.

Hirsh, J., M. F. Glynn and J. F. Mustard (1968). "The effect of platelet age on platelet adherence to collagen." J Clin Invest **47**(3): 466-473.

Hobisch-Hagen, P., W. Jelkmann, A. Mayr, F. J. Wiedermann, D. Fries, M. Herold, A. Klingler and W. Schobersberger (2000). "Low platelet count and elevated serum thrombopoietin after severe trauma." Eur J Haematol **64**(3): 157-163.

Hollis, R. H., B. A. Singletary, J. T. McMurtrie, L. A. Graham, J. S. Richman, C. N. Holcomb, K. M. Itani, T. M. Maddox and M. T. Hawn (2016). "Blood Transfusion and 30-Day Mortality in Patients With Coronary Artery Disease and Anemia Following Noncardiac Surgery." JAMA Surg **151**(2): 139-145.

Hooper, W. C. and B. L. Evatt (1998). "The role of activated protein C resistance in the pathogenesis of venous thrombosis." Am J Med Sci **316**(2): 120-128.

Hopkins, T. J., K. Raghunathan, A. Barbeito, M. Cooter, M. Stafford-Smith, R. Schroeder, K. Grichnik, R. Gilbert and S. Aronson (2016). "Associations between ASA Physical Status and postoperative mortality at 48 h: a contemporary dataset analysis compared to a historical cohort." Perioper Med (Lond) **5**: 29.

House, L. M., K. N. Marolen, P. J. St Jacques, M. D. McEvoy and J. M. Ehrenfeld (2016). "Surgical Apgar score is associated with myocardial injury after noncardiac surgery." J Clin Anesth **34**: 395-402.

- Ibrahim, H., S. Nadipalli, T. DeLao, S. Guthikonda and N. Kleiman (2012). "Immature platelet fraction (IPF) determined with an automated method predicts clopidogrel hyporesponsiveness." Journal of Thrombosis and Thrombolysis **33**(2): 137-142.
- Ibrahim, H., R. C. Schutt, B. Hannawi, T. DeLao, C. M. Barker and N. S. Kleiman (2014). "Association of Immature Platelets With Adverse Cardiovascular Outcomes." Journal of the American College of Cardiology **64**(20): 2122-2129.
- Ikeda, U., T. Ito and K. Shimada (2001). "Interleukin-6 and acute coronary syndrome." Clin Cardiol **24**(11): 701-704.
- Jakubowski, J. A., C. B. Thompson, R. Vaillancourt, C. R. Valeri and D. Deykin (1983). "Arachidonic acid metabolism by platelets of differing size." Br J Haematol **53**(3): 503-511.
- Jhanji, S., B. Thomas, A. Ely, D. Watson, C. J. Hinds and R. M. Pearse (2008). "Mortality and utilisation of critical care resources amongst high-risk surgical patients in a large NHS trust." Anaesthesia **63**(7): 695-700.
- Kamel, H., S. C. Johnston, J. C. Kirkham, C. G. Turner, J. R. Kizer, R. B. Devereux and C. Iadecola (2012). "Association between major perioperative hemorrhage and stroke or Q-wave myocardial infarction." Circulation **126**(2): 207-212.
- Katayama, Y., M. Battista, W. M. Kao, A. Hidalgo, A. J. Peired, S. A. Thomas and P. S. Frenette (2006). "Signals from the sympathetic nervous system regulate hematopoietic stem cell egress from bone marrow." Cell **124**(2): 407-421.
- Kaushansky, K. (2005). "The molecular mechanisms that control thrombopoiesis." J Clin Invest **115**(12): 3339-3347.
- Kheterpal, S., M. O'Reilly, M. J. Englesbe, A. L. Rosenberg, A. M. Shanks, L. Zhang, E. D. Rothman, D. A. Campbell and K. K. Tremper (2009). "Preoperative and intraoperative predictors of cardiac adverse events after general, vascular, and urological surgery." Anesthesiology **110**(1): 58-66.
- Khuri, S. F., W. G. Henderson, R. G. DePalma, C. Mosca, N. A. Healey and D. J. Kumbhani (2005). "Determinants of long-term survival after major surgery and the adverse effect of postoperative complications." Ann Surg **242**(3): 326-341; discussion 341-323.
- Kim, L. J., E. A. Martinez, N. Faraday, T. Dorman, L. A. Fleisher, B. A. Perler, G. M. Williams, D. Chan and P. J. Pronovost (2002). "Cardiac troponin I predicts short-term mortality in vascular surgery patients." Circulation **106**(18): 2366-2371.
- Knaus, W. A., J. E. Zimmerman, D. P. Wagner, E. A. Draper and D. E. Lawrence (1981). "APACHE-acute physiology and chronic health evaluation: a physiologically based classification system." Crit Care Med **9**(8): 591-597.
- Kristensen, S. D., J. Knuuti, A. Saraste, S. Anker, H. E. Botker, S. D. Hert, I. Ford, J. R. Gonzalez-Juanatey, B. Gorenek, G. R. Heyndrickx, A. Hoes, K. Huber, B. Jung, K. P. Kjeldsen, D. Longrois, T. F. Luscher, L. Pierard, S. Pocock, S. Price, M. Roffi, P. A. Sirnes, M. Sousa-Uva, V. Voudris and C. Funck-Brentano (2014). "2014 ESC/ESA Guidelines on non-cardiac surgery: cardiovascular assessment and management: The Joint Task Force on non-cardiac surgery: cardiovascular assessment and management of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Society of Anaesthesiology (ESA)." Eur Heart J **35**(35): 2383-2431.

- Lakkis, N., H. Dokainish, M. Abuzahra, V. Tsyboulev, J. Jorgensen, A. Ponce De Leon and A. Saleem (2004). "Reticulated platelets in acute coronary syndrome: A marker of platelet activity." Journal of the American College of Cardiology **44**(10): 2091-2093.
- Lange, S. and R. Bender (2007). "[Linear regression and correlation]." Dtsch Med Wochenschr **132 Suppl 1**: e9-11.
- Larsen, S. B., E. L. Grove, M. Wurtz, S. Neergaard-Petersen, A. M. Hvas and S. D. Kristensen (2015). "The influence of low-grade inflammation on platelets in patients with stable coronary artery disease." Thromb Haemost **114**(3): 519-529.
- Le Manach, Y., G. Collins, R. Rodseth, C. Le Bihan-Benjamin, B. Biccard, B. Riou, P. J. Devereaux and P. Landais (2016). "Preoperative Score to Predict Postoperative Mortality (POSPOM): Derivation and Validation." Anesthesiology **124**(3): 570-579.
- Lee, T. H., E. R. Marcantonio, C. M. Mangione, E. J. Thomas, C. A. Polanczyk, E. F. Cook, D. J. Sugarbaker, M. C. Donaldson, R. Poss, K. K. Ho, L. E. Ludwig, A. Pedan and L. Goldman (1999). "Derivation and prospective validation of a simple index for prediction of cardiac risk of major noncardiac surgery." Circulation **100**(10): 1043-1049.
- Lee, T. H., E. R. Marcantonio, C. M. Mangione, E. J. Thomas, C. A. Polanczyk, E. F. Cook, D. J. Sugarbaker, M. C. Donaldson, R. Poss, K. K. L. Ho, L. E. Ludwig, A. Pedan and L. Goldman (1999). "Derivation and Prospective Validation of a Simple Index for Prediction of Cardiac Risk of Major Noncardiac Surgery." Circulation **100**(10): 1043-1049.
- Levy, M., D. Heels-Ansdell, R. Hiralal, M. Bhandari, G. Guyatt, S. Yusuf, D. Cook, J. C. Villar, M. McQueen, E. McFalls, M. Filipovic, H. Schunemann, J. Sear, P. Foex, W. Lim, G. Landesberg, G. Godet, D. Poldermans, F. Bursi, M. D. Kertai, N. Bhatnagar and P. J. Devereaux (2011). "Prognostic value of troponin and creatine kinase muscle and brain isoenzyme measurement after noncardiac surgery: a systematic review and meta-analysis." Anesthesiology **114**(4): 796-806.
- Lucreziotti, S., C. Foroni and C. Fiorentini (2002). "Perioperative myocardial infarction in noncardiac surgery: the diagnostic and prognostic role of cardiac troponins." J Intern Med **252**(1): 11-20.
- Mangalpally, K. K., A. Siqueiros-Garcia, M. Vaduganathan, J. F. Dong, N. S. Kleiman and S. Guthikonda (2010). "Platelet activation patterns in platelet size sub-populations: differential responses to aspirin in vitro." J Thromb Thrombolysis **30**(3): 251-262.
- Marik, P. E. and M. Flemmer (2012). "The immune response to surgery and trauma: Implications for treatment." J Trauma Acute Care Surg **73**(4): 801-808.
- Martin, J. F., E. A. Trowbridge, G. Salmon and J. Plumb (1983). "The biological significance of platelet volume: its relationship to bleeding time, platelet thromboxane B2 production and megakaryocyte nuclear DNA concentration." Thromb Res **32**(5): 443-460.
- Matic, G. B., E. S. Chapman, M. Zaiss, G. Rothe and G. Schmitz (1998). "Whole blood analysis of reticulated platelets: improvements of detection and assay stability." Cytometry **34**(5): 229-234.

McCabe, D. J. H., P. Harrison, P. S. Sidhu, M. M. Brown and S. J. Machin (2004). "Circulating reticulated platelets in the early and late phases after ischaemic stroke and transient ischaemic attack." British Journal of Haematology **126**(6): 861-869.

Meintker, L., M. Haimerl, J. Ringwald and S. W. Krause (2013). "Measurement of immature platelets with Abbott CD-Sapphire and Sysmex XE-5000 in haematology and oncology patients." Clin Chem Lab Med **51**(11): 2125-2131.

Mijovic, R., N. Kovacevic, M. Zarkov, Z. Stosic, V. Cabarkapa and G. Mitic (2015). "Reticulated platelets and antiplatelet therapy response in diabetic patients." Journal of Thrombosis and Thrombolysis **40**(2): 203-210.

Miyazaki, K., Y. Koike, S. Kunishima, R. Ishii, M. Danbara, R. Horie, Y. Yatomi and M. Higashihara (2015). "Immature platelet fraction measurement is influenced by platelet size and is a useful parameter for discrimination of macrothrombocytopenia." Hematology **20**(10): 587-592.

Moonesinghe, S. R., M. G. Mythen, P. Das, K. M. Rowan and M. P. W. Grocott (2013). "Risk Stratification Tools for Predicting Morbidity and Mortality in Adult Patients Undergoing Major Surgery: Qualitative Systematic Review." Anesthesiology **119**(4): 959-981  
910.1097/ALN.1090b1013e3182a1094e1094d.

Murphy, A. J., N. Bijl, L. Yvan-Charvet, C. B. Welch, N. Bhagwat, A. Rehemian, Y. Wang, J. A. Shaw, R. L. Levine, H. Ni, A. R. Tall and N. Wang (2013). "Cholesterol efflux in megakaryocyte progenitors suppresses platelet production and thrombocytosis." Nat Med **19**(5): 586-594.

Musallam, K. M., H. M. Tamim, T. Richards, D. R. Spahn, F. R. Rosendaal, A. Habbal, M. Khreiss, F. S. Dahdaleh, K. Khavandi, P. M. Sfeir, A. Soweid, J. J. Hoballah, A. T. Taher and F. R. Jamali (2011). "Preoperative anaemia and postoperative outcomes in non-cardiac surgery: a retrospective cohort study." Lancet **378**(9800): 1396-1407.

Nakamura, T., S. Uchiyama, M. Yamazaki, K. Okubo, Y. Takakuwa and M. Iwata (2002). "Flow cytometric analysis of reticulated platelets in patients with ischemic stroke." Thrombosis Research **106**(4-5): 171-177.

Panteghini, M., F. Pagani, K. T. Yeo, F. S. Apple, R. H. Christenson, F. Dati, J. Mair, J. Ravkilde and A. H. Wu (2004). "Evaluation of imprecision for cardiac troponin assays at low-range concentrations." Clin Chem **50**(2): 327-332.

Pearse, R. M., D. A. Harrison, P. James, D. Watson, C. Hinds, A. Rhodes, R. M. Grounds and E. D. Bennett (2006). "Identification and characterisation of the high-risk surgical population in the United Kingdom." Crit Care **10**(3): R81.

Pearse, R. M., R. P. Moreno, P. Bauer, P. Pelosi, P. Metnitz, C. Spies, B. Vallet, J. L. Vincent, A. Hoeft and A. Rhodes (2012). "Mortality after surgery in Europe: a 7 day cohort study." Lancet **380**(9847): 1059-1065.

Peng, J., P. Friese, J. N. George, G. L. Dale and S. A. Burstein (1994). "Alteration of platelet function in dogs mediated by interleukin-6." Blood **83**(2): 398-403.

Peng, J., P. Friese, E. Heilmann, J. N. George, S. A. Burstein and G. L. Dale (1994). "Aged platelets have an impaired response to thrombin as quantitated by P-selectin expression." Blood **83**(1): 161-166.

- Peng, J., P. Friese, R. Wolf, P. Harrison, T. Downs, S. Lok, G. Dale and S. Burstein (1996). Relative reactivity of platelets from thrombopoietin- and interleukin-6- treated dogs.
- Piazza, G. and S. Z. Goldhaber (2010). "Venous thromboembolism and atherothrombosis: an integrated approach." Circulation **121**(19): 2146-2150.
- Poldermans, D., J. J. Bax, E. Boersma, S. De Hert, E. Eeckhout, G. Fowkes, B. Gorenek, M. G. Hennerici, B. Lung and M. Kelm (2009). "Guidelines for pre-operative cardiac risk assessment and perioperative cardiac management in non-cardiac surgery The Task Force for Preoperative Cardiac Risk Assessment and Perioperative Cardiac Management in Non-cardiac Surgery of the European Society of Cardiology (ESC) and endorsed by the European Society of Anaesthesiology (ESA)." European Heart Journal **30**(22): 2769-2812.
- Poldermans, D., S. E. Hoeks and H. H. Feringa (2008). "Pre-operative risk assessment and risk reduction before surgery." J Am Coll Cardiol **51**(20): 1913-1924.
- Pons, I., M. Monteagudo, G. Lucchetti, L. Munoz, G. Perea, I. Colomina, J. Guiu and J. Obiols (2010). "Correlation between immature platelet fraction and reticulated platelets. Usefulness in the etiology diagnosis of thrombocytopenia." Eur J Haematol **85**(2): 158-163.
- Prause, G., B. Ratzenhofer-Comenda, G. Pierer, F. Smolle-Juttner, H. Glanzer and J. Smolle (1997). "Can ASA grade or Goldman's cardiac risk index predict peri-operative mortality? A study of 16,227 patients." Anaesthesia **52**(3): 203-206.
- Qu, H., Z. Li, Z. Zhai, C. Liu, S. Wang, S. Guo and Z. Zhang (2015). "Predicting of Venous Thromboembolism for Patients Undergoing Gynecological Surgery." Medicine (Baltimore) **94**(39): e1653.
- Regenbogen, S. E., J. M. Ehrenfeld, S. R. Lipsitz, C. C. Greenberg, M. M. Hutter and A. A. Gawande (2009). "Utility of the surgical apgar score: validation in 4119 patients." Arch Surg **144**(1): 30-36; discussion 37.
- Reynolds, P. Q., N. W. Sanders, J. S. Schildcrout, N. D. Mercaldo and P. J. St Jacques (2011). "Expansion of the surgical Apgar score across all surgical subspecialties as a means to predict postoperative mortality." Anesthesiology **114**(6): 1305-1312.
- Ridker, P. M., N. Rifai, M. J. Stampfer and C. H. Hennekens (2000). "Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men." Circulation **101**(15): 1767-1772.
- Robinson, M. S., I. J. Mackie, K. Khair, R. Liesner, A. H. Goodall, G. F. Savidge, S. J. Machin and P. Harrison (1998). "Flow cytometric analysis of reticulated platelets: evidence for a large proportion of non-specific labelling of dense granules by fluorescent dyes." Br J Haematol **100**(2): 351-357.
- Rodseth, R. N., B. M. Biccari, Y. Le Manach, D. I. Sessler, G. A. Lurati Buse, L. Thabane, R. C. Schutt, D. Bolliger, L. Cagini, D. Cardinale, C. P. Chong, R. Chu, M. Cnotliwy, S. Di Somma, R. Fahrner, W. K. Lim, E. Mahla, R. Manikandan, F. Puma, W. B. Pyun, M. Radovic, S. Rajagopalan, S. Suttie, T. Vanniyasingam, W. J. van Gaal, M. Waliszek and P. J. Devereaux (2014). "The prognostic value of pre-operative and post-operative B-type natriuretic peptides in patients undergoing noncardiac surgery: B-type natriuretic peptide and N-terminal fragment of pro-B-type natriuretic peptide: a systematic review and individual patient data meta-analysis." J Am Coll Cardiol **63**(2): 170-180.

- Rogers, S. O., Jr., R. K. Kilaru, P. Hosokawa, W. G. Henderson, M. J. Zinner and S. F. Khuri (2007). "Multivariable predictors of postoperative venous thromboembolic events after general and vascular surgery: results from the patient safety in surgery study." J Am Coll Surg **204**(6): 1211-1221.
- Roggenbach, J., B. Böttiger and P. Teschendorf (2009). "Perioperative Myokardschäden bei nichtkardiologischen Patienten." Der Anaesthesist **58**(7): 665-676.
- Rolston, J. D., S. J. Han, O. Bloch and A. T. Parsa (2014). "What clinical factors predict the incidence of deep venous thrombosis and pulmonary embolism in neurosurgical patients?" J Neurosurg **121**(4): 908-918.
- Rowley, J. W., H. Schwertz and A. S. Weyrich (2012). "Platelet mRNA: the meaning behind the message." Curr Opin Hematol **19**(5): 385-391.
- Sabate, S., A. Mases, N. Guilera, J. Canet, J. Castillo, C. Orrego, A. Sabate, G. Fita, F. Parramon, P. Paniagua, A. Rodriguez and M. Sabate (2011). "Incidence and predictors of major perioperative adverse cardiac and cerebrovascular events in non-cardiac surgery." Br J Anaesth **107**(6): 879-890.
- Sabaté, S., A. Mases, N. Guilera, J. Canet, J. Castillo, C. Orrego, A. Sabaté, G. Fita, F. Parramón, P. Paniagua, A. Rodríguez and M. Sabaté (2011). "Incidence and predictors of major perioperative adverse cardiac and cerebrovascular events in non-cardiac surgery." British Journal of Anaesthesia **107**(6): 879-890.
- Schoenfeld, A. J., J. P. Herzog, J. C. Dunn, J. O. Bader and P. J. Belmont, Jr. (2013). "Patient-based and surgical characteristics associated with the acute development of deep venous thrombosis and pulmonary embolism after spine surgery." Spine (Phila Pa 1976) **38**(21): 1892-1898.
- Schulte, L. M., J. R. O'Brien, M. C. Bean, T. P. Pierce, W. D. Yu and C. Meals (2013). "Deep vein thrombosis and pulmonary embolism after spine surgery: incidence and patient risk factors." Am J Orthop (Belle Mead NJ) **42**(6): 267-270.
- Semel, M. E., S. R. Lipsitz, L. M. Funk, A. M. Bader, T. G. Weiser and A. A. Gawande (2012). "Rates and patterns of death after surgery in the United States, 1996 and 2006." Surgery **151**(2): 171-182.
- Sheeran, P. and G. M. Hall (1997). "Cytokines in anaesthesia." Br J Anaesth **78**(2): 201-219.
- Siddiqui, N. F., S. G. Coca, P. J. Devereaux, A. K. Jain, L. Li, J. Luo, C. R. Parikh, M. Paterson, H. T. Philbrook, R. Wald, M. Walsh, R. Whitlock and A. X. Garg (2012). "Secular trends in acute dialysis after elective major surgery--1995 to 2009." Cmaj **184**(11): 1237-1245.
- Silvain, J., J. Abtan, M. Kerneis, R. Martin, J. Finzi, J. B. Vignallou, O. Barthelemy, S. A. O'Connor, C. E. Luyt, N. Brechot, A. Mercadier, D. Brugier, S. Galier, J. P. Collet, J. Chastre and G. Montalescot (2014). "Impact of red blood cell transfusion on platelet aggregation and inflammatory response in anemic coronary and noncoronary patients: the TRANSFUSION-2 study (impact of transfusion of red blood cell on platelet activation and aggregation studied with flow cytometry use and light transmission aggregometry)." J Am Coll Cardiol **63**(13): 1289-1296.

Smilowitz, N. R., B. S. Oberweis, S. Nukala, A. Rosenberg, S. Zhao, J. Xu, S. Stuchin, R. Iorio, T. Errico, M. J. Radford and J. S. Berger (2016). "Association Between Anemia, Bleeding, and Transfusion with Long-term Mortality Following Noncardiac Surgery." Am J Med **129**(3): 315-323.e312.

Spencer, F. A., C. Emery, S. W. Joffe, L. Pacifico, D. Lessard, G. Reed, J. M. Gore and R. J. Goldberg (2009). "Incidence rates, clinical profile, and outcomes of patients with venous thromboembolism. The Worcester VTE study." J Thromb Thrombolysis **28**(4): 401-409.  
Steptoe, A. and M. Kivimaki (2012). "Stress and cardiovascular disease." Nat Rev Cardiol **9**(6): 360-370.

Streiff, M. B., J. P. Brady, A. M. Grant, S. D. Grosse, B. Wong and T. Popovic (2014). "CDC Grand Rounds: preventing hospital-associated venous thromboembolism." MMWR Morb Mortal Wkly Rep **63**(9): 190-193.

Stromberg, J., O. Sadr-Azodi, P. Videhult, F. Hammarqvist and G. Sandblom (2015). "Incidence and risk factors for symptomatic venous thromboembolism following cholecystectomy." Langenbecks Arch Surg **400**(4): 463-469.

Sweetland, S., J. Green, B. Liu, A. Berrington de Gonzalez, M. Canonico, G. Reeves and V. Beral (2009). "Duration and magnitude of the postoperative risk of venous thromboembolism in middle aged women: prospective cohort study." Bmj **339**: b4583.

Thaulow, E., J. Erikssen, L. Sandvik, H. Stormorken and P. F. Cohn (1991). "Blood platelet count and function are related to total and cardiovascular death in apparently healthy men." Circulation **84**(2): 613-617.

Thompson, C. B., D. G. Love, P. G. Quinn and C. R. Valeri (1983). "Platelet size does not correlate with platelet age." Blood **62**(2): 487-494.

Thygesen, K., J. S. Alpert, H. D. White, A. S. Jaffe, F. S. Apple, M. Galvani, H. A. Katus, L. K. Newby, J. Ravkilde, B. Chaitman, P. M. Clemmensen, M. Dellborg, H. Hod, P. Porela, R. Underwood, J. J. Bax, G. A. Beller, R. Bonow, E. E. Van der Wall, J. P. Bassand, W. Wijns, T. B. Ferguson, P. G. Steg, B. F. Uretsky, D. O. Williams, P. W. Armstrong, E. M. Antman, K. A. Fox, C. W. Hamm, E. M. Ohman, M. L. Simoons, P. A. Poole-Wilson, E. P. Gurfinkel, J. L. Lopez-Sendon, P. Pais, S. Mendis, J. R. Zhu, L. C. Wallentin, F. Fernandez-Aviles, K. M. Fox, A. N. Parkhomenko, S. G. Priori, M. Tendera, L. M. Voipio-Pulkki, A. Vahanian, A. J. Camm, R. De Caterina, V. Dean, K. Dickstein, G. Filippatos, C. Funck-Brentano, I. Hellems, S. D. Kristensen, K. McGregor, U. Sechtem, S. Silber, M. Tendera, P. Widimsky, J. L. Zamorano, J. Morais, S. Brener, R. Harrington, D. Morrow, M. Lim, M. A. Martinez-Rios, S. Steinhilber, G. N. Levine, W. B. Gibler, D. Goff, M. Tubaro, D. Dudek and N. Al-Attar (2007). "Universal definition of myocardial infarction." Circulation **116**(22): 2634-2653.

Tooher, R., P. Middleton, C. Pham, R. Fitridge, S. Rowe, W. Babidge and G. Maddern (2005). "A systematic review of strategies to improve prophylaxis for venous thromboembolism in hospitals." Ann Surg **241**(3): 397-415.

Tschoepe, D., P. Roesen, L. Kaufmann, S. Schauseil, B. Kehrel, H. Ostermann and F. A. Gries (1990). "Evidence for abnormal platelet glycoprotein expression in diabetes mellitus." Eur J Clin Invest **20**(2): 166-170.

Uchiyama, S., M. Yamazaki, Y. Hara and M. Iwata (1997). "Alterations of platelet, coagulation, and fibrinolysis markers in patients with acute ischemic stroke." Semin Thromb Hemost **23**(6): 535-541.

Vamvakas, E. C. (2007). "Platelet transfusion and postoperative infection in cardiac surgery." Transfusion **47**(2): 352-354; author reply 354-356.

Vamvakas, E. C. and M. A. Blajchman (2001). "Deleterious clinical effects of transfusion-associated immunomodulation: fact or fiction?" Blood **97**(5): 1180-1195.

van Lier, F., P. J. van der Geest, J. W. Hol, F. W. Leebeek and S. E. Hoeks (2012). "Risk modification for postoperative pulmonary embolism: timing of postoperative prophylaxis." Thromb Res **129**(4): e14-17.

van Waes, J. A., H. M. Nathoe, J. C. de Graaff, H. Kemperman, G. J. de Borst, L. M. Peelen and W. A. van Klei (2013). "Myocardial injury after noncardiac surgery and its association with short-term mortality." Circulation **127**(23): 2264-2271.

Volpato, S., J. M. Guralnik, L. Ferrucci, J. Balfour, P. Chaves, L. P. Fried and T. B. Harris (2001). "Cardiovascular disease, interleukin-6, and risk of mortality in older women: the women's health and aging study." Circulation **103**(7): 947-953.

Wang, T. Y., J. T. Sakamoto, G. Nayar, V. Suresh, D. B. Loriaux, R. Desai, J. R. Martin, O. Adogwa, J. Moreno, C. A. Bagley, I. O. Karikari and O. N. Gottfried (2015). "Independent Predictors of 30-Day Perioperative Deep Vein Thrombosis in 1346 Consecutive Patients After Spine Surgery." World Neurosurg **84**(6): 1605-1612.

Wartier, D. C., P. S. Pagel and J. R. Kersten (2000). "Approaches to the prevention of perioperative myocardial ischemia." Anesthesiology **92**(1): 253-259.

Watala, C., M. Boncler, T. Pietrucha and Z. Trojanowski (1999). "Possible mechanisms of the altered platelet volume distribution in type 2 diabetes: does increased platelet activation contribute to platelet size heterogeneity?" Platelets **10**(1): 52-60.

Watt, D. G., P. G. Horgan and D. C. McMillan (2015). "Routine clinical markers of the magnitude of the systemic inflammatory response after elective operation: a systematic review." Surgery **157**(2): 362-380.

Weiser, T. G., S. E. Regenbogen, K. D. Thompson, A. B. Haynes, S. R. Lipsitz, W. R. Berry and A. A. Gawande (2008). "An estimation of the global volume of surgery: a modelling strategy based on available data." Lancet **372**(9633): 139-144.

Wells, P. S., D. R. Anderson, J. Bormanis, F. Guy, M. Mitchell, L. Gray, C. Clement, K. S. Robinson and B. Lewandowski (1997). "Value of assessment of pretest probability of deep-vein thrombosis in clinical management." Lancet **350**(9094): 1795-1798.

White, R. H., S. Gettner, J. M. Newman, K. B. Trauner and P. S. Romano (2000). "Predictors of rehospitalization for symptomatic venous thromboembolism after total hip arthroplasty." N Engl J Med **343**(24): 1758-1764.

Whiteley, M. S., D. R. Prytherch, B. Higgins, P. C. Weaver and W. G. Prout (1996). "An evaluation of the POSSUM surgical scoring system." Br J Surg **83**(6): 812-815.

Whiting, P. S., G. A. White-Dzuro, S. E. Greenberg, J. P. VanHouten, F. R. Avilucea, W. T. Obremsky and M. K. Sethi (2016). "Risk Factors for Deep Venous Thrombosis Following Orthopaedic Trauma Surgery: An Analysis of 56,000 patients." Arch Trauma Res **5**(1): e32915.

Yeo, D. X., S. Junnarkar, S. Balasubramaniam, Y. P. Tan, J. K. Low, W. Woon and T. C. Pang (2015). "Incidence of venous thromboembolism and its pharmacological prophylaxis in Asian general surgery patients: a systematic review." World J Surg **39**(1): 150-157.

Zimmerman, G. A. and A. S. Weyrich (2008). "Signal-dependent protein synthesis by activated platelets: new pathways to altered phenotype and function." Arterioscler Thromb Vasc Biol **28**(3): s17-24.

## **Danksagung**

PD Dr. med. Bettina Jungwirth

für die Überlassung des interessanten Themas und konstante Unterstützung

Dr. med. Aida Anetsberger

für die außergewöhnlich hervorragende Betreuung und ständige Hilfsbereitschaft

meine Kollegin Theresa Hager

für die gute und von Harmonie und gegenseitiger Hilfsbereitschaft gezeichnete  
Zusammenarbeit

das gesamte Personal der Stationen der Viszeral-, Gefäß-, MKG-, Neurochirurgie und  
Orthopädie am Klinikum rechts der Isar in München, das Personal der Aufwachräume  
am Klinikum rechts der Isar in München

für die Hilfe bei der Rekrutierung der Patienten und der Koordination der  
Blutabnahmen

Dr. Elise Doyle

für die konstante Unterstützung und Motivation

Felix Henderson

für immerwährende Freundschaft und Unterstützung in allen Belangen

meine Eltern, Dr. med. Alois Langgartner und Dr. med. Ulrike Langgartner, sowie  
meine Brüder Lorenz und Dr. med. Simon Langgartner und meine Großmutter Ilse  
Grill,

denen diese Arbeit gewidmet ist

allen Probanden, die an der Studie teilgenommen haben und diese somit erst ermöglicht  
haben, gilt ausdrücklich mein besonderer Dank

# Lebenslauf

Name, Vorname: Langgartner Clemens

Geburtstag, Geburtsort: 08.01.1991, München

---

Studium: September 2010 bis September 2012 Medizinstudium an der Universität Regensburg  
September 2012 bis September 2013 Medizinstudium an der LMU in München  
September 2013 bis Juli 2017 Medizinstudium an der TU in München, Abschluss mit der Gesamtnote 2,0  
Dezember 2013 Beginn der Arbeit an der vorliegenden Dissertation

Schulabschluss: Allgemeine Hochschulreife, Note 1,1

Schullaufbahn: 2001-2007 Albert-Einstein-Gymnasium in München  
2007-2009 Kilkenny College in Kilkenny, Irland

---

Sprachen: Englisch fließend  
Latein (6 Jahre)  
Französisch (4 Jahre)  
Schwedisch (1 Jahr)

---

Interessen: Klavier, Musik, Natur