

Aus dem Deutschen Herzzentrum Berlin

Klinik für Angeborene Herzfehler – Kinderkardiologie

DISSERTATION

Evaluation von Thrombozytenfunktionstests bei Kindern mit
Shunt-abhängigem angeborenem Herzfehler

*Evaluation of Platelet Function Testing in Children with
Systemic-to-Pulmonary-Artery Shunt due to congenital heart
disease*

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät

Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Cornelius Sebastian Forke

aus Pforzheim

Datum der Promotion: 25.11.2022

Vorwort

Aus Gründen der besseren Lesbarkeit wurde in dieser Arbeit das generische Maskulinum verwendet. An dieser Stelle soll deutlich darauf hingewiesen werden, dass diese Form geschlechtsunabhängig verstanden werden soll.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	V
Tabellenverzeichnis	VI
Abkürzungsverzeichnis	VII
Abstract.....	IX
1 Einleitung.....	1
1.1 Herzfehler als Indikation für einen aortopulmonalen Shunt.....	3
1.2 Der aortopulmonale Shunt	5
1.3 Therapiemanagement von Kindern mit aortopulmonalem Shunt	7
1.4 Therapiemonitoring	8
1.4.1 Impedanzaggregometrie.....	10
1.4.2 Lichttransmissionsaggregometrie	14
1.5 Hypothesen und Zielsetzungen.....	19
2 Methodik.....	21
2.1 Studiendesign	21
2.2 Studienpopulation	23
2.3 Übersicht der analysierten Parameter.....	24
2.4 Statistische Analyse.....	25
3 Ergebnisse.....	27
3.1 Studienpopulation	27
3.2 Vergleich der Testverfahren.....	34
3.2.1 Verwendete Testverfahren	34
3.2.2 Gesamtanalyse aller durchgeführten Tests	38
3.2.3 Anpassung der Multiplate Grenzwerte.....	40
3.2.4 Korrelation zwischen ASS und Testergebnis.....	41
3.3 Verfahrensanalyse	44
3.3.1 Änderung der Therapie als Konsequenz auf das Testergebnis.....	44
3.3.2 Abweichung von der Handlungsempfehlung	45
3.3.3 Vergleich von einfach und zweifach getesteten Patienten.....	47
3.3.4 Verfahrensanalyse mit Aufschlüsselung der verwendeten Testverfahren	48

3.3.5	Verfahrensentwicklung im Studienzeitraum.....	49
3.4	Handlungsempfehlung	50
3.5	Patienten ohne suffizientes Testergebnis - ASS-Non-Responder.....	51
3.6	Explorative Datenanalyse	52
3.6.1	Unterschiede im Testergebnis nach früher postoperativer Testung	52
3.6.2	Einfluss des Alters auf die Funktionstestung unter ASS-Therapie	53
3.6.3	Zusammenhang zwischen Multiplate-Testergebnis und Thrombozytenzahl.....	54
4	Diskussion	56
4.1	Diskussion der Ergebnisse.....	56
4.1.1	Patientenkohorte	56
4.1.2	Vergleich der Testverfahren	57
4.1.3	Verfahrensanalyse.....	65
4.1.4	Handlungsempfehlung.....	68
4.1.5	ASS-Non-Responder.....	73
4.1.6	Komplikationen.....	75
4.1.7	Explorative Datenerhebung	77
4.2	Limitationen.....	81
4.3	Schlussfolgerung	82
5	Literaturverzeichnis	84
	Eidesstattliche Versicherung	91
	Lebenslauf.....	92
	Danksagung.....	94
	Bescheinigung Statistik.....	95

Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung 1.</i> Schematische Darstellung eines modifizierten Blalock-Taussig-Shunts mit Gore-Tex®-Prothese.....	6
<i>Abbildung 2.</i> Thrombozytäre Aktivierung durch Agonisten in der Multiplate-Analyse.	11
<i>Abbildung 3.</i> Messkurven einer Multiplate-Analyse.	13
<i>Abbildung 4.</i> Messkurven einer typischen LTA-Analyse unter ASS-Therapie.	16
<i>Abbildung 5.</i> Schema der Patientenauswahl für die Studie.	21
<i>Abbildung 6.</i> Darstellung der erhobenen Zielgrößen für die Studie.	24
<i>Abbildung 7.</i> Verteilung der angeborenen Herzfehler innerhalb der Studie.....	30
<i>Abbildung 8.</i> Darstellung der durchgeführten Funktionstests.	34
<i>Abbildung 9.</i> Darstellung der ASS-Testergebnisse in der Doppeltestungsgruppe.....	35
<i>Abbildung 10.</i> Darstellung der Ergebnisse aller Multiplate- Testungen.	36
<i>Abbildung 11.</i> Darstellung der Ergebnisse aller LTA Testungen.	36
<i>Abbildung 12.</i> Darstellung der Testergebnisse bei den jeweilig verwendeten Reagenzien.....	37
<i>Abbildung 13.</i> Darstellung aller im Studienzeitraum durchgeführten Funktionstestungen.	39
<i>Abbildung 14.</i> Streudiagramm der Korrelation zwischen LTA-Testergebnis (Arachidonsäure) und der verabreichten ASS – Dosierung.	41
<i>Abbildung 15.</i> Streudiagramm der Korrelation zwischen Multiplate-Testergebnis (Arachidonsäure) und der verabreichten ASS – Dosierung.	42
<i>Abbildung 16.</i> Streudiagramm der Korrelation zwischen Multiplate-Testergebnis und LTA-Testergebnis.	43
<i>Abbildung 17.</i> Darstellung des von der Handlungsempfehlung abweichenden Vorgehens	46
<i>Abbildung 18.</i> Ergebnisse der Verfahrensanalyse im Überblick.	48
<i>Abbildung 19.</i> Darstellung der angewandten Testverfahren im Studienzeitraum	49
<i>Abbildung 20.</i> Handlungsempfehlung für das ASS-Therapiemonitoring.....	50
<i>Abbildung 21.</i> Einteilung der Funktionstestergebnisse nach Alter der Patienten.....	53
<i>Abbildung 22.</i> Streudiagramm der Korrelation zwischen Multiplate-Testergebnis (Arachidonsäure) und der jeweiligen Thrombozyten-Zahl.	54

Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1.</i> Demographische Daten des Patientenkollektivs	27
<i>Tabelle 2.</i> Shunt-Operation.....	28
<i>Tabelle 3.</i> Routinelabor des Patientenkollektivs	29
<i>Tabelle 4.</i> Komplikationen in der Studienkohorte	31
<i>Tabelle 5.</i> Vitalparameter der Patienten zum Testzeitpunkt	33
<i>Tabelle 6.</i> Therapieanpassung vor und nach Thrombozytenfunktionsdiagnostik	44
<i>Tabelle 7.</i> Vergleich der Patienten mit einer Testung zu Patienten mit Testwiederholung	47

Abkürzungsverzeichnis

AHF	Angeborener Herzfehler
AP-Shunt	Aortapulmonaler Shunt
ASPI	Arachidonsäure
ASS	Acetylsalicylsäure
AT-III	Antithrombin-III
AV-Klappe	Atrioventrikularklappe
AVSD	Atrioventrikulärer Septumdefekt
BDCPA	Bidirektionale cavopulmonale Anastomose
BT-Shunt	Blalock-Taussig-Shunt
CRP	C-reaktives Protein
DHZB	Deutsches Herzzentrum Berlin
DILV	<i>Double inlet left ventricle</i>
DIRV	<i>Double inlet right ventricle</i>
DIV	<i>Double inlet ventricle</i>
DOLV	<i>Double outlet left ventricle</i>
DORV	<i>Double outlet right ventricle</i>
GOT/AST	Aspartat-Aminotransferase
GPT/ALT	Alanin-Aminotransferase
HLHS	Hypoplastisches Linksherzsyndrom
INR	<i>International Normalized Ratio</i>
ISTH	<i>International Society on Thrombosis and Haemostasis</i>
LTA	Lichttransmissionsaggregometrie
mBT-Shunt	Modifizierter Blalock-Taussig Shunt
mLV	Morphologisch linker Ventrikel
mRV	Morphologisch rechter Ventrikel
MW	Mittelwert

PDA	Persistierender <i>Ductus arteriosus Botalli</i>
PFA-100	<i>Platelet Function Analyzer 100</i>
POCT	<i>Point-of-Care-Test</i>
PPP	Plättchenarmes Plasma
PRP	Plättchenreiches Plasma
PS	Pulmonalarterienstenose
PTT	partielle Thromboplastinzeit
ROC	<i>Receiver Operating Characteristic</i>
SD	Standardabweichung
TRAP	Thrombinrezeptor aktivierendes Peptid
TPZ	Thromboplastinzeit (Quick-Wert)
SSW	Schwangerschaftswoche
UVH	Univentrikuläres Herz
VAD	<i>ventricle assist device</i>
VSD	Ventrikelseptumdefekt

Abstract

Deutsch

Einleitung: Kinder mit schweren angeborenen Herzfehlern stehen nach initialer Shunt-Operation unter dem Risiko, einen lebensgefährlichen Shunt-Verschluss zu erleiden. Das Risiko kann durch die Therapie mit Acetylsalicylsäure (ASS) gesenkt werden. Am Deutschen Herzzentrum Berlin (DHZB) werden Thrombozytenfunktionstests eingesetzt, um die Patienten zu identifizieren, die keine ASS-Wirkung zeigen (ASS-Non-Responder). Ziel dieser Studie ist der erstmalige Vergleich der beiden im DHZB zu Anwendung kommenden Testverfahren Lichttransmissionsaggregometrie (LTA) und Multiplate-Analyse bei Patienten mit aortopulmonalem Shunt. In einer weiteren Auswertung werden klinischen Abläufe analysiert mit dem Ziel, eine Handlungsempfehlung zu erstellen.

Methoden: In dieser Studie konnten im Zeitraum von 2014-2019 retrospektiv Daten von 103 Patienten mit aortopulmonalem Shunt unter ASS-Therapie ausgewertet werden. Neben den Funktionstestungen wurden auch klinische Parameter und Laborwerte analysiert. Zudem wurden für die Handlungsempfehlung Dosis-Änderungen, Umstellung der Therapie und erneute Durchführung der Funktionstestung dokumentiert.

Ergebnis: Die LTA-Analyse ergab bei 86,3% der Patienten (n=63/73) eine suffiziente ASS-Therapie, bei der Multiplate-Analyse war dies in 19,8% der Fall (n=15/76). Bei Patienten, die mit beiden Verfahren getestet wurden, stimmen die Ergebnisse in 26% der Fälle überein (n=12/46). In 73,9% der Fälle ergab die LTA-Analyse eine suffiziente Hemmung (n=34/46), wohingegen die Multiplate-Analyse eine insuffiziente Hemmung anzeigte. Rückblickend zeigten sich 1,94% der Patienten als ASS-Non-Responder (n=2/103). Bei 13,6% der Patienten trat ein Shunt-Verschluss auf (n=14/103), einer davon unter ASS-Therapie. Ein starker Zusammenhang bestand zwischen Multiplate-Ergebnissen und Thrombozytenzahl der Patienten ($r=0,543$, $p=0,001$). Initial wurden 15,5% der Patienten unter der Dosis-Empfehlung von 3 mg/kgKG therapiert (n=16/103). Durch Erhöhung der Dosis und erneutes Testen konnte die Rate der suffizienten Therapie um 41,7% gesteigert werden. Von der abschließend entwickelten Handlungsempfehlung wurde während des Studienzeitraums in 22,3% der Fälle abgewichen (n=23/103). Im Verlauf des Studienzeitraumes nahm die durchschnittliche

ASS-Dosierung zu und die Therapieüberwachung näherte sich den Vorgaben der Handlungsempfehlung an.

Diskussion: Im Vergleich der beiden Testverfahren scheint die LTA-Analyse für eine Überwachung der ASS-Therapie der Multiplate-Analyse überlegen zu sein. Die aus der Verfahrensanalyse hervorgegangene Handlungsempfehlung soll dazu dienen, die Therapie von Patienten mit aortopulmonalem Shunt weiter zu verbessern. Bisher besteht keine Evidenz, ob das Erkennen eines ASS-Non-Responders und somit auch das Therapie-Monitoring einen Überlebensvorteil hat. Somit ist die Handlungsempfehlung Basis für folgende prospektive Vergleichsstudien, um Überlebensvorteil und Komplikationsrate unter Therapie-Monitoring zu untersuchen.

Englisch

Background: Pediatric patients with severe congenital heart defects are at an increased risk to suffer shunt thrombosis after implantation of systemic-to-pulmonary-artery shunts. The risk of shunt thrombosis can be reduced by using Acetylsalicylic acid (ASA). At the German Heart Center Berlin, two platelet function tests are applied to identify ASA nonresponse. The aim of this study was to compare the two tests used at the German Heart Center Berlin, these being Light Transmission Aggregometry (LTA) and Impedance Aggregometry (Multiplate), for the first time in pediatric patients who have a systemic-to-pulmonary-artery shunt. A Standard Operating Procedure (SOP) was then developed by analyzing current clinical processes.

Methods: In the period from 2014-2019, data from 103 patients who had received ASA treatment had been analyzed retrospectively. In addition to function testing, clinical and laboratory parameters were also evaluated. To further develop an SOP, changes in medication and dosing were documented as well as test repetitions.

Results: With the application of LTA, 86.3% of the tested subjects showed adequate inhibition (n=63/73). When Multiplate was applied, 19.8% of the subjects showed an adequate inhibition (n=15/76). In patients where both methods had been used, 26% showed the same results (n=12/46). In 73.9% LTA showed adequate inhibition (n=34/46), whereas Multiplate showed inadequate inhibition. In retrospect 1.94% of the patients can be diagnosed as ASA non-responders (n=2/103). 13.6% percent of the patients experienced shunt thrombosis (n=14/103), with one case occurring during ASA treatment. Furthermore, a strong correlation was found between Multiplate results and platelet counts of the patients ($r=0.543$, $p=0.001$). Overall, 15.5% of the subjects received less than 3 mg per kg of bodyweight, which is the lowest recommended dosage (n=16/103). The rate of sufficient test results increased by 41.7% when dosage had been increased and testing was repeated. The treatment of the analyzed subjects was different in 22.3% of the cases when compared to the developed SOP. During the study period, the dosage of ASA increases, and the treatment approached towards the SOP.

Conclusion: When comparing the two platelet function test systems, LTA seems to be more suitable at testing platelet function under ASA therapy in the given patients. The developed SOP will be used to improve the therapy of patients who have systemic-to-pulmonary-artery shunts even further. Up to this point, there is no evidence that monitoring and detecting patients with ASA nonresponse can improve the survival rate of the analyzed patient group. Thus, the SOP can be the basis to conduct a randomized controlled trial, to determine if ASA monitoring can provide improvement in survival, by reducing the complication rate.

1 Einleitung

In Deutschland wird etwa jedes einhundertste Kind mit einem Herzfehler geboren. Damit handelt es sich um die häufigste angeborene Malformation (1). In den letzten Jahrzehnten wurden Verfahren etabliert, die es ermöglichen, selbst schwere angeborene Herzfehler (AHF) erfolgreich zu behandeln (2). Ein Teil der Therapie kann die operative Anlage eines aortopulmonalen Shunts in der Neonatalperiode darstellen.

Einen Grundstein der operativen Behandlung von schweren bzw. univentrikulären AHFs stellt der Blalock-Taussig-Shunt (BT-Shunt) dar. Dabei handelt es sich um eine Anastomose zwischen der *Arteria subclavia* und der *Arteria pulmonalis*. Diese Operation stellte bei ihrer Einführung 1944 durch den Herzchirurgen Alfred Blalock in Zusammenarbeit mit der Kinderärztin Hellen Taussig die erste operative Behandlungsmöglichkeit des *Blue Baby Syndroms* dar (3). Bei der heute als *zyanotische Herzfehler* zusammengefassten Gruppe von AHFs umgeht ein Teil des sauerstoffarmen Blutes die Lunge über den *ductus arteriosus botalli* und gelangt direkt wieder in den Körperkreislauf. Dieser Umstand ist für das Überleben der Patienten notwendig, führt aber gleichzeitig zu einer ausgeprägten Zyanose. Durch den BT-Shunt wird die Lungendurchblutung verbessert und damit dem Körper mehr Sauerstoff zugeführt.

Nicht zuletzt durch die Einführung der aortopulmonalen Anastomose gilt Helen Taussig durch ihr Wirken als Begründerin der Kinderkardiologie. Zunächst als palliative Operation bei zyanotischen Kindern eingesetzt, stellt der modifizierte Blalock-Taussig-Shunt (mBT-Shunt) heute den ersten Schritt eines dreistufigen Palliationsverfahrens dar. Dabei werden Körper- und Lungenkreislauf nicht mehr direkt miteinander verbunden, stattdessen wird eine Gore-Tex-Prothese als Shunt verwendet. Ebenfalls erfolgt eine Aortenbogenrekonstruktion, falls dies erforderlich ist. Im zweiten Schritt der Palliation folgt die operative Anlage der bidirektionalen oberen kavopulmonalen Anastomose (Glenn-Anastomose). Bei dieser Operation wird ebenfalls der mBT-Shunt entfernt. Abschließend wird die Palliation durch Verbindung der Vena Cava inferior mit der Pulmonalarterie mittels einer Kunststoffprothese beendet. Dieses Vorgehen wird als Fontan-Prinzip bezeichnet (4).

AHFs, die eines solchen palliativen Vorgehens bedürfen, werden allgemein als funktionelle Univentrikel Herzfehler (UVH) bezeichnet (5). Bei schweren Ausprägungen bestimmter AHF kommt der Shunt auch zum Einsatz, um Zeit für eine korrigierende Operation zu gewinnen. Patienten, die im Rahmen dieses Vorgehens mit einem aortopulmonalen Shunt versorgt werden, stehen im Zentrum dieser Arbeit.

In beiden Fällen entsteht eine mehrmonatige Zeitspanne, in der eine Shunt-abhängige Kreislaufsituation besteht. Hämodynamisch gesehen kann in Shunt-abhängige Lungenperfusion (z.B. bei folgenden AHF-Phänotypen: Pulmonalatresie, Trikuspidalatresie) oder Shunt-abhängige Systemperfusion (hypoplastisches Linksherzsyndrom, Aortenatresie) unterschieden werden. Das Überleben der Patienten ist von der Durchgängigkeit des Shunts abhängig. Somit ist eine der schwerwiegendsten Komplikationen dieser Patientenkohorte der thrombotische Verschluss der Shunt-Verbindung (5).

Zur Vermeidung eines thrombotischen Verschlusses bedarf es einer antithrombotischen Therapie mittels Thrombozytenaggregationshemmer. Zur Überwachung der Therapie stehen mehrere Funktionstests zur Verfügung. Im *Deutschen Herzzentrum Berlin* werden die Lichttransmissionsaggregometrie (LTA) und die Impedanzaggregometrie (Multiplate®-Analyse) angewandt. Konsens in der Auswahl der Thrombozytenaggregationshemmer oder der Wahl des therapieüberwachenden Tests über die kinderherzologischen Kliniken hinweg besteht aktuell nicht, eine Vielzahl von Methoden findet Anwendung (6). Der Bedarf einer Standardisierung im Umgang mit einer Prophylaxe der Shunt-Thrombose ist groß. Forschungsarbeiten im pädiatrischen Bereich gibt es wenig. Folglich stammen Vorgaben, wie Grenzwerte für eine suffiziente Therapie, aus der Erwachsenenmedizin (7, 8).

Die vorliegende Forschungsarbeit befasst sich in einer retrospektiven Datenanalyse mit dem Vergleich der beiden Testverfahren, die am *Deutschen Herzzentrum Berlin* Anwendung finden. Des Weiteren soll aus einer Verfahrensanalyse eine Handlungsempfehlung erarbeitet werden, die als Grundlage für den klinischen Alltag und weitere Forschung dienen kann. Das Ziel dieser Arbeit ist eine Verbesserung der thrombozytenhemmenden Therapie und die Entwicklung einer standardisierten Behandlung von pädiatrischen Patienten mit Shunt-abhängiger Kreislaufsituation.

1.1 Herzfehler als Indikation für einen aortopulmonalen Shunt

Etwa drei von 10.000 Kindern kommen mit einem univentrikulärem Herzen zur Welt, von denen etwa die Hälfte ein *hypoplastisches Linksherzsyndrom* (HLHS) aufweisen (1). Damit ist das HLHS die häufigste Indikation für die operative Anlage eines aortopulmonalen Shunts. Klassischerweise liegt bei einem HLHS eine Hypoplasie des linken Ventrikels vor, begleitet von einer schweren Stenose oder Atresie der *Mitral-* und *Aortenklappe*. Neben den Strukturen des linken Herzens zeigt sich auch die *Aorta ascendens* hypoplastisch. Die Versorgung der Herzkranzgefäße sowie der Kopf-Hals-Gefäße erfolgt retrograd über den *Ductus arteriosus Botalli*. Intrauterin kann dies gut toleriert werden, nach der Geburt muss aber mittels Prostaglandin-E-Infusion dafür Sorge getragen werden, dass sich der *Ductus arteriosus Botalli* nicht verschließt, wie es natürlicherweise der Fall wäre (9). Die operative Standardtherapie besteht in der Palliation nach dem Norwood-Verfahren mit dem Ziel der kompletten Abtrennung der Kreisläufe nach dem Fontan-Prinzip. Dabei wird der rechte Ventrikel zum Systemventrikel (5). Die einzige Alternative zu diesem dreistufigen Palliationsverfahren stellt die Herztransplantation dar, die jedoch in der Praxis fast keine Rolle spielt, da wenig Organe zur Transplantation zur Verfügung stehen.

Bei der *Trikuspidalatresie* handelt es mit einem Fall pro 10.000 Geburten um den zweiten zentralen Phänotyp dieser Studie. Bei diesem AHF besteht kein Blutfluss zwischen rechtem Vorhof und rechter Kammer. Die Lungenperfusion erfolgt über einen Ventrikelseptumdefekt in die rechte Kammer oder über einen Links-Rechts-Shunt über den *Ductus arteriosus Botalli*. Das Therapieziel bei der *Trikuspidalatresie* ist ebenfalls die univentrikuläre Kreislaufauftrennung nach dem Fontan-Prinzip, dabei ist sie die klassische Indikation für dieses Verfahren (5). Zuletzt wird der *Double Inlet Ventrikel* zu den univentrikulären Herzfehlern gezählt, dessen Therapie immer in einer Kreislauf-Auftrennung nach Fontan samt aortopulmonalen Shunt besteht. Das Auftreten liegt bei unter 1% aller angeborenen Herzfehler. In 80% der Fälle handelt es sich um einen morphologisch linken Ventrikel (DILV). (10).

Neben den definitiven Indikationen für eine univentrikuläre Palliation, die einen aortopulmonalen Shunt beinhaltet, gibt es weitere Herzfehler, bei denen besonders schwere Ausprägungen ebenfalls univentrikulär therapiert werden.

Eine dieser Phänotypen stellt die *Pulmonalatresie* mit etwa 1% aller AHFs dar (1). Dabei wird grundlegend unterschieden, ob die *Pulmonalatresie* mit einem *Ventrikelseptumdefekt* (VSD) vergesellschaftet ist oder nicht. Ist die Lungendurchblutung vom *Ductus arteriosus botalli* abhängig, wird in der Neonatalperiode ein aortopulmonaler Shunt angelegt. Die definitive Korrektur erfolgt zu einem späteren Zeitpunkt mit der Rastelli-Operation. Dabei wird die Pulmonalatresie durch ein klappentragendes Conduit (Schlauchverbindung) ersetzt und der VSD verschlossen (11). Bei einer Pulmonalatresie ohne Ventrikelseptumdefekt verfügt die rechte Kammer über keinen richtigen Ausflusstrakt, die Lungendurchblutung wird hier ausschließlich über den *Ductus arteriosus Botalli* gewährleistet. Bei dieser Konstellation hängen die Therapieoptionen von der Größe des rechten Ventrikels ab. Ist dieser gut entwickelt, kann eine Zweikammerrekonstruktion vorgenommen werden. Meistens ist dabei auch ein aortopulmonaler Shunt angezeigt. Ist der rechte Ventrikel zu klein, entspricht das Vorgehen der univentrikulären Palliation nach dem Fontan-Prinzip. (12)

Der *atrioventrikuläre Septumdefekt* (AVSD) ist mit 2,5 % aller AHFs etwas seltener als die Gruppe der univentrikulären Herzen (1). Es handelt sich dabei um eine Entwicklungsstörung, die vor allem AV-klappennahen Anteile des Vorhof- und Ventrikelseptums aber auch die AV-Klappen selbst betrifft. Eine Sonderform stellt der unbalancierte AVSD dar, bei dem einer der beiden Ventrikel hypoplastisch ist, und somit nur eine univentrikuläre Palliation inklusive aortopulmonalem Shunt nach dem Fontan-Prinzip möglich ist (13). Bei dem *Double Outlet Right Ventricle* (DORV) handelt es sich ebenfalls um eine seltene Fehlbildung am Herzen - etwa 1% aller angeborenen Herzfehler (1). Dabei entspringt neben der Pulmonalarterie auch die Aorta dem rechten Ventrikel. In wenigen Fällen kann nicht primär operativ korrigiert werden, folglich wird auf einen aortopulmonalen Shunt zurückgegriffen (14). Mit 0,4% stellt die *Ebstein-Anomalie* einen noch selteneren AHF dar (1). Dabei handelt es sich um eine Fehlbildung der Trikuspidalklappe, bei der diese weit in den rechten Ventrikel verlagert sein kann. In seltenen Fällen wird zur Verbesserung der pulmonalen Perfusion ein aortopulmonaler Shunt angelegt. Ist eine biventrikuläre Therapie nicht möglich, erfolgt eine univentrikuläre Palliation nach Fontan (15). Der *Truncus arteriosus communis* ist mit 0,5 % aller AHFs ebenfalls selten (1). Dabei verlässt nur ein großes arterielles Gefäß das Herz, ein VSD ist immer Teil des Herzfehlers. Therapeutisch wird stets eine operative Korrektur

angestrebt, in seltenen Fällen kommt ein aortopulmonaler Shunt infrage, wenn nicht initial korrigierend operiert werden kann, z.B. wegen zu niedrigem Körpergewichts (16). Abschließend soll noch die komplexe Dextro-Transposition der großen Arterien (d-TGA) mit VSD Erwähnung finden, die mit 2,2 % aller AHF wieder etwas häufiger vorkommt (1). Unter Umständen muss hier vor der definitiven Korrektur ein aortopulmonaler Shunt implantiert werden, um die Lungenperfusion zu gewährleisten (17).

1.2 Der aortopulmonale Shunt

Als Shunt wird in der Medizin eine Kurzschlussverbindung getrennter Kompartimente (wie zum Beispiel Blutgefäße) bezeichnet. Diese können physiologisch, pathologisch oder iatrogen bedingt sein (18). Auf dem Feld der Kinderkardiologie sind vor allem pathologische Shunts wie ein VSD und künstliche Shunts, die im Rahmen einer Operation hergestellt werden, von Bedeutung. Operativ eingebrachte Shunts dienen bei ihrer Einführung zunächst dazu, die bestehende Zyanose bei der Fallot-Tetralogie abzumildern (19). Erst später wurden Shunt-Anlagen Teil einer mehrstufigen Therapie mit dem Ziel einer definitiven Palliation der funktionellen univentrikulären Herzfehler (20). Auch heute findet der aortopulmonale Shunt Anwendung, um die Lungenperfusion zu regulieren, oder, um bei ductusabhängiger Lungenperfusion nach der Durchtrennung des Ductus Arteriosus Botalli diese weiter zu gewährleisten. Die drei häufigsten Indikationen für die Implantation eines Aortopulmonalen Shunts sind das *Hypoplastische Linksherzsyndrom*, die *Trikuspidalatresie* und die *Pulmonalatresie* (21) Hier erfolgt die Operation bereits in den ersten Lebenstagen.

Im Folgenden werden zwei Shuntarten genauer betrachtet (Abbildung 1), da diese im klinischen Alltag häufig zur Anwendung kommen. Bei dem modifizierten Blalock-Taussig Shunt handelt es sich um eine Kunststoffprothese, welche meist zwischen der *Arteria Pulmonalis dextra* und der *Arteria subclavia dextra* anastomosiert wird (22). Standardmäßig kommen Prothesen mit 3,5 - 4 mm Durchmesser zum Einsatz.

Durch die individuelle Anatomie der Herzfehler stehen Alternativen zur Verfügung. Der zentrale Shunt gehört zu einer der wichtigsten Möglichkeiten. Dieser wird zwischen zentraler Arteria pulmonalis und der Aorta ascendens implantiert. Anwendung findet dieses Vorgehen zum Beispiel, wenn die distal gelegenen Segmente der Pulmonalarterien zu klein für eine Anastomose sind (2).

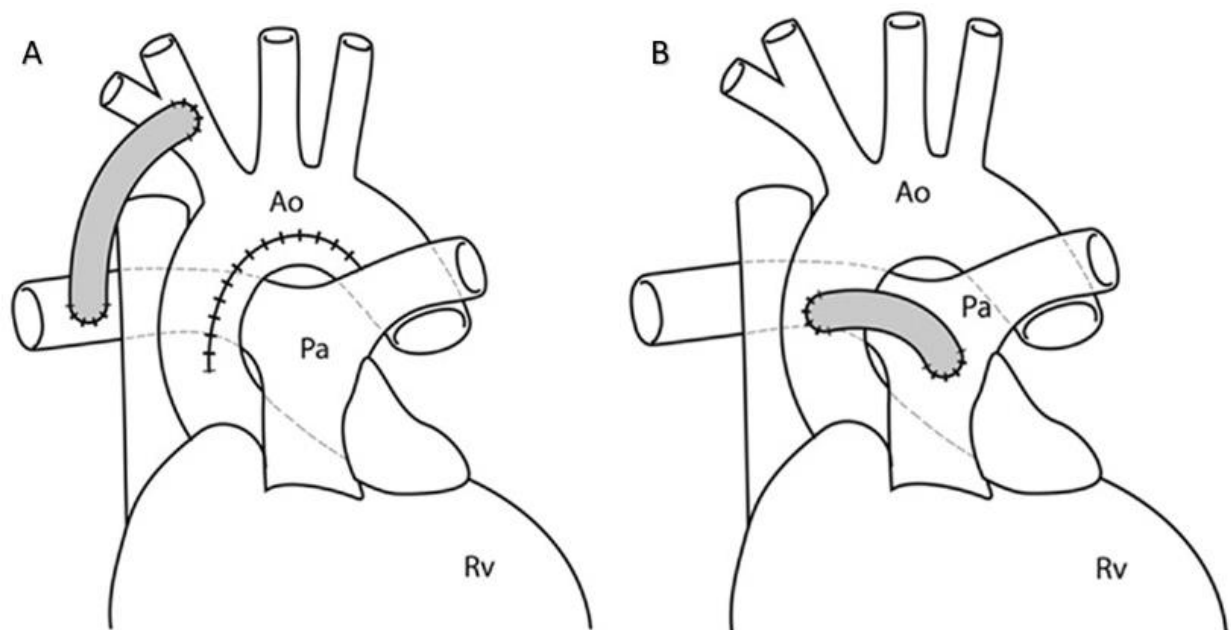


Abbildung 1. Schematische Darstellung eines modifizierten Blalock-Taussig-Shunts mit Gore-Tex®-Prothese. (A) Neben der Shuntanlage ist ebenfalls die „Neo-Aorta“ dargestellt. Diese entsteht durch die Anastomose zwischen Aortenbogen (Ao) und Arteria pulmonalis (Pa) sowie Erweiterung mittels Patch-Anlage. Zentraler AP-Shunt mit Prothese zwischen zentraler Arteria pulmonalis (Pa) und Aorta ascendens. (B) Abbildung nach Binglio et al.(22)

Ob der Shunt die richtige Größe hat, wird anhand der peripheren Sauerstoffsättigung festgestellt. Der Zielwert liegt zwischen 75% und 85%. Werte darunter können Hinweis auf einen zu kleinen Shunt sein. Dabei gelangt zu wenig Blut in die Lunge, um dort oxygeniert zu werden. Sättigungswerten über 85% können hingegen für einen zu großen Shunt sprechen, die Lunge wird überflutet und der Körperkreislauf bekommt zu wenig Blut. Hier besteht bereits intraoperativ die Möglichkeit, mit Hilfe von Metall-Clips den Shunt zu verkleinern, und so eine balancierte Perfusion zu erzielen. Mit der Implantation eines Shunts wird gleichzeitig der *Ductus arteriosus* reseziert. In einigen Fällen wird das

Sternum postoperativ nicht verschlossen, um sich die Möglichkeit einer Shunt-Revision zu erhalten. Ebenso kann dadurch schneller auf postoperativ auftretende Komplikationen wie einen Shunt-Verschluss reagiert werden. Ziel der Shunt-Operation ist es, sichere Kreislaufverhältnisse zu schaffen, damit sich das Lungengefäßbett weiter entwickeln kann (4).

1.3 Therapiemanagement von Kindern mit aortopulmonalem Shunt

Durch die immer weiter gefassten Indikationen für einen aortopulmonalen Shunt wurde in den letzten Jahrzehnten das Patientenkollektiv umfangreicher. Mit zunehmender Patientenzahlen und dementsprechend steigender Erfahrung konnte die perioperative Mortalitätsrate auf 9% gesenkt werden (23).

Eine schwere Komplikation nach der Shunt-Operation ist die Shunt-Thrombose (24). Azakie et al. zeigen, dass der thrombotische Verschluss eines aortopulmonalen Shunts mit einer Steigerung der Mortalitätsrate um 15% einhergeht (25). Im Einklang damit ist eine Studie von Fenton et al. zu sehen, in der die Sterblichkeitsrate nach Krankenhausentlassung und vor dem nächsten operativen Schritt auf 14 % beziffert wird. 33% der Todesfälle sind hierbei auf eine Shunt-Thrombose zurückzuführen (26).

Gleichfalls gab es schon früh Hinweise darauf, dass Acetylsalicylsäure (ASS) das Risiko eines Shunt-Verschlusses senken kann (27). Eine große Studie von Li et al., welche sich mit dem Auftreten von Shunt-Verschlüssen befasst hat, beschreibt die Inzidenz für einen Verschluss mit 12%. Gleichzeitig konnte bestätigt werden, dass ASS das Risiko des Auftretens einer Shunt-Thrombose vermindert und folglich auch die Mortalität senkt. In der Vergleichsgruppe mit ASS-Therapie traten knapp zehn Mal weniger Shunt-Verschlüsse (Hazard Ratio = 0,13) auf als in der Gruppe ohne ASS-Therapie (21).

Ebenso stellt sich die Frage, ob eine Thrombozytenaggregationshemmung durch ASS ausreichend ist, da nach wie vor thrombotische Verschlüsse unter ASS-Therapie auftreten. So ist zu erklären, dass in Studienkohorten mit aortopulmonalem Shunt nur 87,9% bzw. 79% der Patienten mit ASS therapiert werden. Es herrscht Dissens bezüglich der Wahl der Medikamente für eine adäquate Thrombozyten-aggregationshemmung bei

Kindern mit aortopulmonalem Shunt. Gleichwohl gibt es Studien, die sich für eine duale Plättchenhemmung aus ASS und Clopidogrel aussprechen (28).

Andererseits wurde gezeigt, dass Clopidogrel als Ergänzung zu ASS keinen Therapievorteil bringt, weder durch Senkung der Mortalitätsrate noch durch Reduktion der Shunt-bezogenen Komplikationen (29). In Folge dessen empfiehlt die Deutsche Gesellschaft für pädiatrische Kardiologie die Gabe von Thrombozytenaggregationshemmern in Form von ASS oder Clopidogrel (5). Am DHZB wird primär ASS in einer Dosis von 3-5 mg/kg Körpergewicht zur Prophylaxe einer Shunt-Thrombose eingesetzt. Zeigt die Funktionstestung eine unzureichende Thrombozytenhemmung, wird auf Clopidogrel umgestellt.

Bei normalem klinischem Verlauf werden die Patienten am DHZB nach der Shunt-Operation für einige Tage auf der Intensivstation überwacht. Während dieser Zeit erfolgt die Antikoagulation mittels Heparin-Perfusor über einen zentral-venösen Zugang. Bei Verlegung auf die Normalstation wird dieser entfernt und das Heparin durch ASS ersetzt. Dabei kommt es zur Überlappung beider Medikationen. Die Thrombozytenfunktionsdiagnostik erfolgt wenige Tage nach Start der ASS-Therapie.

1.4 Therapiemonitoring

Bei Erwachsenen ist hinlänglich bekannt, dass die Wirkung von ASS variiert. Es gibt Patienten, die trotz einer adäquaten Dosis eine zu hohe Thrombozytenfunktion ausweisen oder im Gegenteil sogar zu wenig. ASS wirkt in dem Fall stärker als gewünscht (30, 31). Auch bei Patienten der Kinderherzchirurgie sind solche Varianzen in der ASS-Antwort beschrieben (20, 30, 32).

In einem Review aus 2019 von Huang et al., das sich mit dem Monitoring von thrombozytenhemmender Therapie auseinandersetzt, fanden in 20 Studien elf verschiedene Verfahren Anwendung. Keines dieser Verfahren zeigte sich einem der anderen Verfahren überlegen. Es gibt keinen Konsens darüber, ab welchem Laborwert eine Therapie als suffizient erachtet wird oder nicht. Folglich gibt es bis heute keinen Standard, der festlegt, wie die Wirkung von Thrombozytenaggregationshemmern überwacht werden soll (6). Ursprünglich diente die Thrombozytenfunktionsdiagnostik zur

Diagnosefindung bei Thrombozytopathien. Erst in den vergangenen 20 Jahren wurden die Verfahren zunehmend auch zum Therapiemonitoring eingesetzt.

Im Folgenden werden die wichtigsten Funktionstests der Thrombozyten dargestellt, um einen Überblick darüber zu bekommen, wie viele Verfahren zur Verfügung stehen, die in den erwähnten Studien zur Anwendung kommen. Die beiden im Zentrum dieser Arbeit stehenden Tests, Lichttransmissionsaggregometrie und Impedanzaggregometrie (Multiplate), werden im Anschluss ausführlich besprochen. In erster Linie lassen sich *Point-of-Care-Tests* (POCT) von dedizierten Laborverfahren unterscheiden. Vorteile von POCTs sind neben der schnellen Durchführbarkeit außerhalb des Labors auch die Möglichkeit der Einzeltestung sowie die Handhabung durch Personal ohne labortechnische Ausbildung. Zweck dieser Verfahren ist es, eine schnelle Überprüfung der Blutgerinnung zum Beispiel während einer Operation oder bei einer Herzkatheteruntersuchung durchführen zu können (33). Allen Tests ist gemein, dass ihre Anwendung in erster Linie in der Erwachsenenmedizin erprobt wurden. Es gibt nur wenig Forschungsarbeiten, welche sich mit der Anwendung der Tests bei Kindern beschäftigen.

Ersatz für die erste klinische Messung der Blutungszeit nach Duke (34) bietet das *Platelet Function Analyzer 100* (PTA-100) Testverfahren. Hierbei handelt es sich um ein Vollblut-POCT, bei dem die Blutprobe durch eine mit thrombozytenaktivierenden Substanzen beschichtete Kapillare gesogen wird. Gemessen wird die Zeitspanne, in der die Kapillare durch sich aggregierende Thrombozyten verschlossen wird. Das Verfahren findet Anwendung in der Überwachung der ASS-Therapie (30-32). Ein weiterer POCT ist das *Plateletworks* System. Das Verfahren beruht auf dem Vergleich der Plättchenzahlen in einer Blutprobe ohne bereits abgelaufene Gerinnung und einer zweiten Blutprobe, bei der durch Zugabe von Aktivatoren die primäre Hämostase bereits abgeschlossen ist (35). Ebenso vor Ort durchführbar sind die Thrombelastografie (TEG) und die Rotationsthrombelastometrie (ROTEM). Beide Verfahren untersuchen die Konsistenz eines Blutgerinnsels und dessen Elastizität anhand einer Vollblut-Probe (36, 37). Das letzte zu erwähnende *Point-of-care*-Verfahren, ist das *Verify-Now* System. Bei diesem Verfahren wird Citrat-Vollblut in eine Einwegmesskassette gegeben, in der sich Fibrinogen beschichtete Partikel befinden. Die Thrombozyten beginnen mit den Partikeln zu aggregieren, dies wird turbidometrisch gemessen (38). Bei der Turbidometrie handelt

es sich um ein optisches Messverfahren, bei dem durch Abschwächung eines Lichtstrahls, der das zu messende Medium durchleuchtet, eine Teilchenkonzentration bestimmt werden kann (18). Das Verfahren findet auch in der pädiatrischen Herzchirurgie Anwendung (20).

1.4.1 Impedanzaggregometrie

Bei der *Impedanzaggregometrie* handelt es sich um ein Vollbluttestverfahren, welches 1980 zum ersten Mal beschrieben wurde (39). Wie bei den bereits dargestellten Verfahren kann auch die *Impedanzaggregometrie* als POCT angewandt werden. Die Methode beruht auf der Messung des Widerstandes zwischen zwei Elektroden. Durch die Zugabe von Agonisten, welche die Thrombozyten über unterschiedliche Wege aktivieren (ADP, Arachidonsäure oder TRAP (Thrombin Receptor Activation Peptide)), bilden sich zunehmend Thrombozytenaggregate an den Elektroden. Daraus folgt eine Zunahme der elektrischen Impedanz (in Ohm gemessen) zwischen den Elektroden. Diese kann detektiert werden und spiegelt die ablaufende Thrombozytenaggregation wider. Das beschriebene Verfahren wird vom Hersteller Roche *Multiplate-Analyse* genannt. Andere Messerverfahren, welche ebenfalls mittels Impedanzmessung arbeiten, wie das *Chrono-log-Testsystem*, können zusätzlich zur Aggregation auch Sekretions- und Speicherstörungen der Thrombozyten messen. Dieses Verfahren findet am DHZB aber keine Anwendung (40). Zur Probengewinnung wird eine Hirudin-Monovette (3mL) verwendet. Hirudin inhibiert Thrombin und dient als Antikoagulant, ohne dabei die physiologische Calciumkonzentration des Blutes zu verändern.

Zum Verständnis der Wirkungsweise der Reagenzien und damit deren Aussagekraft wird an dieser Stelle kurz auf die primäre Hämostase eingegangen, an der die Thrombozyten maßgeblich beteiligt sind. Liegt im Gefäßsystem eine Endothelverletzung vor, kommt es zur Anheftung des thrombozytären von-Willebrand-Rezeptors an das Subendothel über den Von-Willebrand-Faktor. Im Anschluss folgt nach der Adhäsion der Thrombozyten deren Aktivierung durch eine Bindung von Kollagen an den thrombozytären GPIa/IIb-Rezeptor. Aktivierte Thrombozyten setzen ihrerseits Botenstoffe wie ADP frei, dies aktiviert bis dato ruhende Thrombozyten über den membranständigen ADP-Rezeptor (P2Y₁₂-Rezeptor) und verstärkt die Thrombozytenaktivität deutlich. Pharmakologisch kann an dieser Stelle Clopidogrel als Hemmer dieses Rezeptors eingesetzt werden, um

die Aktivierung weiterer Thrombozyten zu unterbinden und Gefäßverschlüssen vorzubeugen. Zur selben Zeit setzt der aktivierte Thrombozyt Thromboxan A₂ frei, dies wird mit Hilfe der Cyclooxygenase 1 (COX-1) aus Arachidonsäure synthetisiert und aktiviert ebenfalls weitere Thrombozyten. Hier kann ebenfalls pharmakologisch mittels ASS eingegriffen werden. ASS hemmt COX-1 irreversibel und somit auch den Aktivierungspfad der Thrombozyten über Thromboxan A₂. Die eigentliche Aggregation der Thrombozyten erfolgt über der GPIIb/IIIa-Rezeptor, der ebenfalls als Teil der Aktivierung exprimiert wird. Als Bindeglied zwischen den Thrombozyten dient das Akut-Phase-Protein Fibrinogen, welches sich an besagten Rezeptor binden kann. Thrombin, das im Rahmen der plasmatischen Gerinnung entsteht, stellt ebenfalls einen starken Aktivator der Thrombozyten dar (41, 42) .

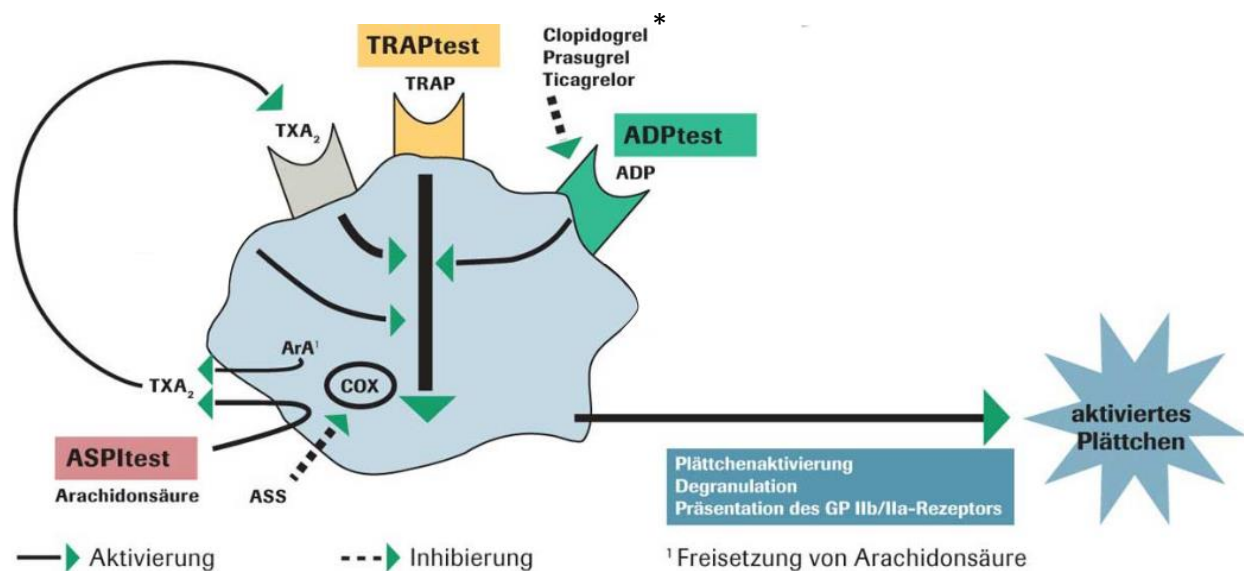


Abbildung 2. Thrombozytäre Aktivierung durch Agonisten in der Multiplate-Analyse. TRAP= Thrombinrezeptor-aktivierendes Peptid, ADP= Adenosindiphosphat, TxA₂= Thromboxan A₂. ASPItest, TRAPtest und ADPtest= Bezeichnung der jeweiligen Test Kits durch den Hersteller. ASS= Acetylsalicylsäure, * = Medikamente aus der Gruppe der Thienopyridine zur Hemmung des ADP-Rezeptors. Modifiziert durch Cornelius Forke mit Genehmigung durch den Hersteller Roche (43)

An den physiologischen Abläufen spiegelt sich die Auswahl der Agonisten in der Impedanzaggregometrie wider (Abbildung 2). Dadurch, dass jeder Messküvette nur ein Agonist zugefügt wird, kann separiert ein Aktivierungsweg der Thrombozyten betrachtet werden, um Aussagen darüber treffen zu können, an welcher Stelle der Hämostase eine

Störung vorliegt. Dabei dient der ADP-Agonist als Überwachung der Clopidogrel-Therapie. Mit Arachidonsäure als Agonist kann die Wirkung von ASS quantifiziert werden. TRAP (Thrombinrezeptor-aktivierendes Peptid) wirkt wie Thrombin am Thrombin-Rezeptor (PAR-1) und ist unabhängig von ASS oder Clopidogrel wirksam und kann somit in der Überwachung von Thrombozytenaggregationshemmern als Negativkontrolle verwendet werden (43).

Die Testung wird mittels computergesteuerter Pipette unterstützt, die jeweiligen Mengen der Reagenzien sowie die Inkubationszeiten sind vorgegeben. Bei dem verwendeten Gerät am DHZB handelt es sich um das Multiplate® Model 5.0 der Firma Roche Diagnostics Deutschland GmbH. Die Messung erfolgt im Labor durch Laborpersonal. Begonnen wird die Analyse mit der Zugabe von 300µL Kochsalzlösung (0,9%, 37°C vorgewärmt) in die Messzelle. Dazu wird dieselbe Menge hirudinisiertes Probenblut (15-25 °C) gegeben und für 180 Sekunden mit Hilfe eines Magnetrührers inkubiert. Die Blutprobe muss dabei innerhalb von 30-180 Minuten nach Entnahme analysiert werden. Mit der Zugabe von 20 µl Startreagenz beginnt die sechsminütige Messung der Impedanz. Durch die unterschiedliche Konzentration der Reagenzien ergeben sich unterschiedliche Endkonzentrationen in der Test-Zelle. Das ASPitest-Reagenz, hat eine Konzentration von 15 mmol/l, wodurch sich eine Endkonzentration von 0,5 mmol/l Arachidonsäure ergibt. Das TRAPtest-Reagenz hat eine Konzentration von 1 mmol/l, folglich liegt die Endkonzentration von TRAP in der Test-Zelle bei 32 µmol/l. Das ADPtest-Reagenz hat eine Konzentration von 0,2 mmol/l, wodurch die Endkonzentration bei 6,4 µmol/l liegt (44). Die Reagenzien stammen ebenfalls von der Firma Roche. In der Zelle lagern sich die Thrombozyten an den Messelektroden an, dies führt zu einer Widerstandserhöhung zwischen den Elektroden, die über die Testdauer von sechs Minuten aufgezeichnet wird. Da in jeder Test-Zelle zwei Elektrodenpaare enthalten sind, können parallel zwei Messungen durchgeführt werden (s. Abbildung 3 rote und blaue Kurve). Es entstehen zwei Messkurven, die sich in ihrem Verlauf ähneln sollten. Die Kurven visualisieren die Fähigkeit der Thrombozyten zu aggregieren. Weichen die Kurven zu stark voneinander ab, wird der Test als fehlerhaft gewertet (45). Die Doppelmessung dient als interne Kontrolle. Der Anstieg des Widerstandes wird in AU (aggregation units) gemessen, dabei entsprechen 8 AU einem Ohm Impedanz. Aus der

Fläche unter der Messkurve (Area under the Curve) werden die willkürlichen Einheiten U und AU*min gebildet. 1U entsprechen dabei 10 Au*min (43).

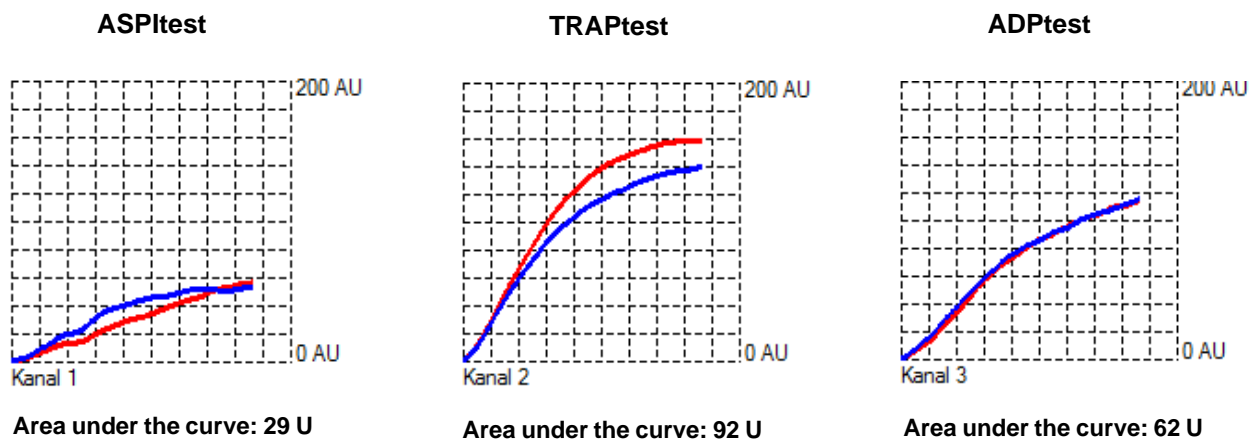


Abbildung 3. Messkurven einer Multiplate-Analyse. Messung eines stationären pädiatrischen Patienten unter ASS-Therapie aus dem DHZB. Der ASS-Effekt auf die Messkurve im ASPItest ist nicht zu sehen, die Varianz zwischen den Messkurven liegt im tolerablen Bereich <20%. Testagenzien: ASPI= Arachidonsäure, TRAP= Thrombinrezeptor-aktivierendes Peptid, ADP= Adenin Diphosphat. Normwerte (DHZB): ASPI: 70-115U, TRAP= 84-128, ADP= 57-113

Halimeh et al. (46) bestimmten erstmals Referenzwerte für gesunde Kinder. Dabei wurden vier Altersgruppen gebildet. Es zeigte sich, dass Kinder im Alter von unter einem Jahr eine signifikant schlechtere Aggregation aufwiesen als Kinder der höheren Altersgruppen. Die mediane Aggregation in dieser Gruppe liegt bei: ADP: 107 U, TRAP: 101U und ASPI: 93U. Diese Werte gelten für die Verwendung von Hirudin-Monovetten. Vom Hersteller gibt es nur Vorgaben für die Testung bei Erwachsenen: ADP: 55-113, TRAP: 84-128, ASPI: 71-115 (43). Bei allen bisherigen Angaben handelt es sich um Referenzwerte, ohne dass Medikamente zur Thrombozytenhemmung verabreicht wurden. Für die Frage nach einer suffizienten ASS-Therapie ist ein deutlich niedrigerer Grenzwert zu verwenden. Von Pape et al. schlagen einen Grenzwert von unter 30 U als Definition für eine suffiziente Aggregationshemmung durch ASS bei Erwachsenen vor (8). Dieser Grenzwert findet auch in der vorliegenden Studie Anwendung.

Die Multiplate-Analyse findet bei Erwachsenen breite Verwendung in der Forschung bezüglich der Therapieüberwachung von Thrombozytenaggregationshemmern, aber auch in der Diagnostik von angeborenen Thrombozytenfunktionsstörungen wird von

einer höheren Sensibilität im Vergleich zu den anderen Tests berichtet (47, 48). Dem Verfahren wird eine immer größere Rolle auf dem Feld der Thrombozytenfunktionsdiagnostik zugesprochen, bis dato gibt es aber nur wenig Anwendung im pädiatrischen Bereich.

Neben ersten Bemühungen von Halimeh et al., eigene Referenzwerte für pädiatrische Patienten zu definieren, gibt es einige wenige Arbeiten aus dem Bereich der Pädiatrie, welche die Multiplate-Analyse für ihre Fragestellungen verwenden. Hofer et al. untersuchten mit der Methode den Einfluss von Herzoperationen auf die Thrombozytenaggregation bei Kindern mit zyanotischem gegenüber azyanotischem AHF. Es zeigte sich eine perioperative Abnahme der Thrombozytenfunktion. Ein Zusammenhang zwischen schlechter Thrombozytenaggregation und erhöhtem Blutverlust während der OP konnte nicht bestätigt werden (49). Des Weiteren gibt es eine Forschungsarbeit von Romlin et al., die sich mit der Überwachung der ASS Therapie mittels Multiplate bei Kindern mit shunt-abhängigem Kreislauf befasst. Dabei zeigte sich initial bei 93% der Patienten eine suffiziente Thrombozytenhemmung, diese ließ aber deutlich nach bei einer Follow Up-Untersuchung 3-6 Monaten später. Hier waren nur noch 64% im therapeutischen Fenster (50).

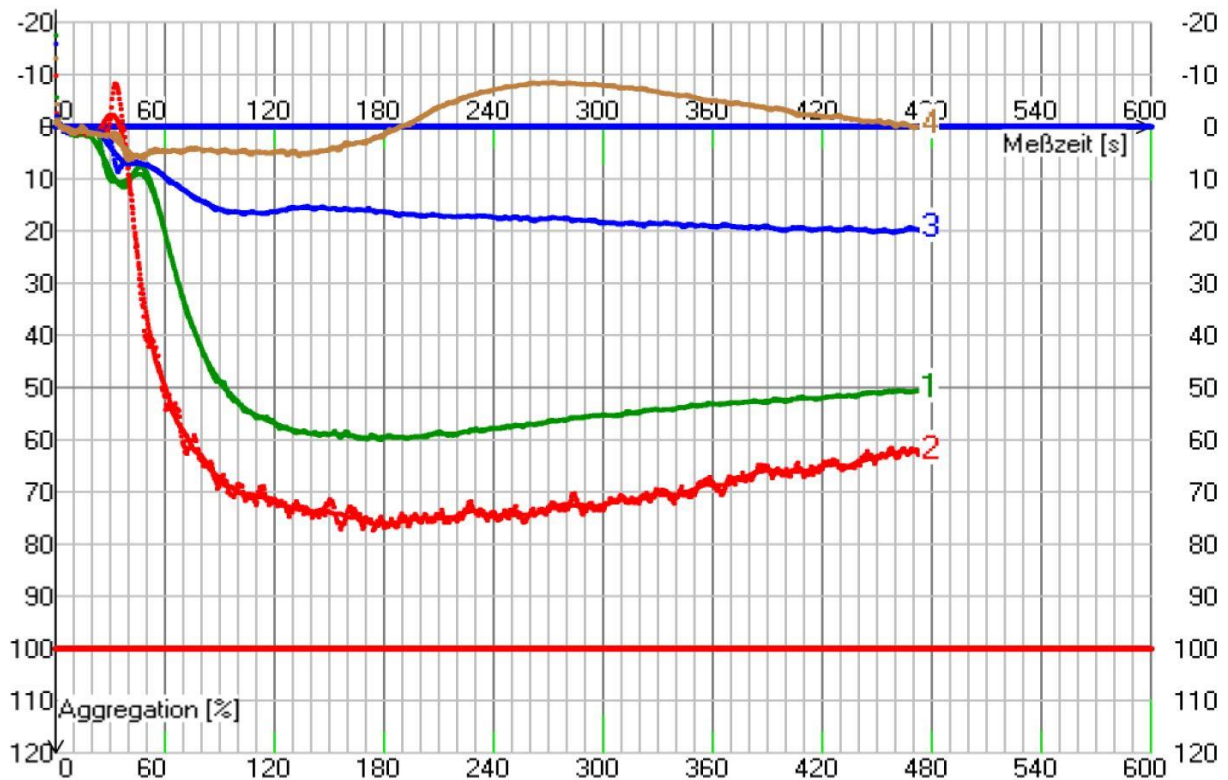
Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass es sich bei der Multiplate-Analyse um eine im Vergleich neue Methode handelt, die bisher vor allem in der Erwachsenenmedizin zur Anwendung kam. Im pädiatrischen Bereich gibt es bisher wenig Studien mit divergenten Ergebnissen, was auch den Mangel an Normwerten und Grenzwerten für eine suffiziente Therapie bei Kindern erklärt.

1.4.2 Lichttransmissionsaggregometrie

Bei der Lichttransmissionsaggregometrie (LTA) handelt es sich im Gegensatz zu den zuvor beschriebenen Funktionstests um keinen POCT. Das Verfahren benötigt einen erfahrenen Laboranten. Die Methode wurde 1962 von Born eingeführt (51) und hat sich im Laufe der Jahre als Goldstandard in der Diagnostik von thrombozytären Funktionsstörungen sowohl in der Forschung als auch in der Klinik durchgesetzt (52). Das Prinzip der LTA beruht auf der turbidometrischen Messung der Aggregation von Thrombozyten in plättchenreichem Plasma, dem Agonisten beigefügt werden. Zur

Anwendung kommen - ähnlich wie bei der Multiplate-Analyse - ADP, Arachidonsäure, Kollagen und Adrenalin. Die jeweiligen Konzentrationen der Reagenzien für die Testung am DZHB können der Abbildung 4 entnommen werden. Die Auswahl der Agonisten erfolgt entsprechend der Fragestellung. Die Wirkung der Agonisten wurde bei den Ausführungen zur Impedanzaggregometrie bereits erörtert. Im Gegensatz zur Multiplate-Analyse dient bei dem LTA-Verfahren Kollagen zur Negativ-Kontrolle, da es sich dabei um einen starken Aktivator der Thrombozyten handelt (53).

Am DHZB kommt das Gerät Apact 4s Plus der Firma DiaSys Deutschland Vertriebs GmbH zum Einsatz. Die Reagenzien stammen von der Firma Haemochrom Diagnostica (53). Für eine Messung werden mindestens 3 ml Citrat-antikoaguliertes Blut benötigt. Die Blutprobe muss vor der eigentlichen Testung mehrmals zentrifugiert werden, um einerseits plättchenreiches Plasma (PRP), als auch plättchenarmes Plasma (PPP) herzustellen. Für das PRP wird die Blutprobe 17 Minuten bei 900 U/min zentrifugiert. Im Anschluss daran wird die Probe für weitere 12 Minuten bei 4000 U/min zentrifugiert, um PPP zu erhalten. Das Messgerät hat einen Messbereich von 30 k/μl bis 600 k/μl für PRP und für PPP < 5 k/μl. Dabei handelt es sich nicht um die Thrombozytenzahl in der Blutprobe, sondern um die Konzentration nach Zentrifugation. In der Messküvette wird zunächst PPP (200 μl) bei 37 °C mittels eines Magnetrührers konstant durchmischt (700-1000 U/min). Dabei wird die Probe von einem Lichtstrahl mit 740 nm Wellenlänge durchleuchtet, eine Photozelle detektiert dabei deren Durchlässigkeit. Dadurch wird ein Referenzwert für die eigentliche Aggregationsmessung erstellt. Eine Angabe über die abgelaufene Aggregation wird in % angegeben. Dabei repräsentiert die optisch gemessene Dichte des trüben PRP 0%. Das klare PPP wird als 100% definiert.



					Agg.	De-Agg.	De-Agg.
Datum	Nachname	Test	Bemerkung	Kanal	Max [%]	Agg.T2 [%]	De-Agg. [%]
		Kollagen 100 ug/ml		1	59.57	50.53	
		ADP 200 µM		2	76.11	62.27	18.18
		Epinephrine 100 µM		3	19.96	19.70	
		Arachidonsäure 5 mg/ml		4	5.67	-0.05	

Abbildung 4. Messkurven einer typischen LTA-Analyse unter ASS-Therapie. Messung eines stationären pädiatrischen Patienten aus dem DHZB. Bei der Zugabe von Arachidonsäure (Kanal 4) findet keine Aggregation statt, die Probe wird nicht klarer. Normwerte (DHZB): APD: 70-90%, Arachidonsäure 70-90%, Kollagen: 70-90%, Epinephrin: 70-80%.

Für die eigentliche Messung werden der Küvette 200 µl PRP zugegeben. Durch Zugabe eines Agonisten werden die Thrombozyten aktiviert und es kommt zur Aggregation, die Aggregate sinken ab und die zu Beginn trübe Probe wird für Licht durchlässiger. Damit nähert sich die untersuchte Probe dem Referenzwert des PPP an. Bei normaler Aggregation steigt der Wert von anfangs 0% auf einen Bereich um 100%. Die Aggregation der Probe wird über 10 Minuten gemessen, dabei entsteht eine Messkurve anhand deren Steilheit Rückschlüsse auf die Geschwindigkeit der Aggregation gezogen

werden können (Abbildung 4). Der Referenzbereich für einen Patienten ohne Medikation oder mit einer zu Grunde liegenden thrombozytären Erkrankung sollte von jedem Labor selbst bestimmt werden. Dabei reicht dieser je nach verwendetem Agonisten von 60% bis zu 90% maximaler Lichtdurchlässigkeit (53). Anhand des Verlaufes der Kurve und des verwendeten Agonisten können mit Hilfe des Testes verschiedene Thrombozytopathien diagnostiziert werden. Daneben können aber auch die Therapien mit ASS und Clopidogrel mit Hilfe der Agonisten Arachidonsäure und ADP überwacht werden (52).

Bei der LTA-Analyse handelt es sich um eine technisch aufwendig und zeitintensive Messmethode, bei der einige präanalytische und analytische Variablen Einfluss auf das Testergebnis nehmen können. Dies beginnt bei dem Herstellen des PRP mit Hilfe einer Zentrifuge und der Dosierung der Agonisten. 2013 wurden von der „*International Society on Thrombosis and Haemostasis*“ (ISTH) Empfehlungen ausgearbeitet, um einen einheitlichen Standard in der Thrombozytentestung zu schaffen (54). Darin wird empfohlen, dass jedes Labor selbst Referenzwerte erstellt. Dabei handelt es sich um Werte für gesunde Patienten ohne Thrombozyten-beeinträchtigende Medikation (53).

Auf Grund der Tatsache, dass die LTA-Analyse in der Forschung und Klinik als Goldstandard für Thrombozytenfunktionsdiagnostik gilt, existieren eine Vielzahl an Forschungsarbeiten. Von besonderem Interesse für vorliegende Studie sind Arbeiten, die sich mit der Thrombozyten-hemmenden Therapie bei Kindern beschäftigen. Diese Studien untersuchen zum Beispiel das Auftreten von ASS-Resistenzen (55-57). Dabei wird zwischen Laborresistenz und klinischer Resistenz unterschieden. Eine Laborresistenz liegt vor, wenn trotz der Gabe einer definierten ASS-Menge der entsprechende Zielwert im Funktionstest nicht erreicht wird. Dem gegenüber steht die klinische Resistenz. Diese ist definiert als das Auftreten einer Komplikation, z.B. einer Thrombose, unter vorhandener Thrombozytenaggregationshemmung. Die Angaben zur Inzidenz einer Laborresistenz schwanken deutlich, in einem Review von Huang et al. reichen die Angaben aus einzelnen Studien von 0-43% (6). Die Grenzwerte, die in den genannten Studien für die LTA-Analyse Anwendung finden, sind Grundlage für die Definition einer suffizienten ASS-Therapie in der vorliegenden Studie. Die Autoren definieren eine Laborresistenz für ASS, wenn das Arachidonsäure-Ergebnis $> 20\%$ liegt

(7). Vom Begriff der ASS-Resistenz wird in dieser Studie nicht Gebrauch gemacht, stattdessen wird der Begriff ASS-Non-Responder verwendet, der neben Testergebnis auch ASS-Dosierung und Testwiederholungen berücksichtigt (s. Kap. 3.5 und 4.1.5).

Trotz der weiten Verbreitung des Verfahrens in der Hämostaseforschung, gibt es Probleme. Zunächst ist die eingeschränkte Standardisierbarkeit aufzuführen, die in der aufwendigen Vorbereitung der Proben begründet liegt. Begleitend gibt es einige Störgrößen, welche die LTA-Messung beeinflussen können. Dazu zählen Lipämie, Hämolyse, pH-Wert-Veränderungen oder auch Hämatokritwerte > 60%. Für eine Analyse sind relativ große Blutmengen erforderlich, bei pädiatrischen Patienten ist dies besonders problematisch. Die Untersuchung erfolgt in PRP und nicht im Vollblut, dabei ist bekannt, dass Erythrozyten und Leukozyten Einfluss auf Thrombozyten nehmen (48). Das Verfahren ist wegen der aufwendigen Aufbereitung der Blutprobe zeitintensiv, mit hohen Kosten verbunden und nicht immer verfügbar (58). Abschließend ist zu erwähnen, dass die ISTH das LTA-Testverfahren aus genannten Gründen nicht für die Therapieüberwachung von Thrombozytenaggregationshemmern empfiehlt (54).

Dem gegenüber steht mit der Multiplate-Impedanz-Aggregometrie ein neues Testverfahren zur Verfügung, das etliche Vorteile mit sich bringt und dementsprechend immer mehr Anwendung in Forschung und Klinikalltag erhält. Der wichtigste Vorteil der Multiplate-Analyse gegenüber LTA ist das geringe Probenvolumen, wodurch die Methode vor allem für den pädiatrischen Bereich interessant ist. Ebenso spricht die einfache Handhabung für dieses Verfahren, da eine aufwendige Probenaufbereitung entfällt. Daraus resultieren eine einfachere Standardisierbarkeit und schneller verfügbare Testergebnisse. Ebenso kann das Verfahren bei Hämolyse, Lipämie oder Thrombozytopenie angewendet werden (58). Durch die Messung in Vollblut wird zudem eine physiologisch bessere Testbedingung für die Thrombozyten gewährleistet als dies bei der Messung in PRP bei der LTA-Analyse der Fall ist. Dabei spielt auch das Wegfallen der Zentrifugation eine Rolle, da dabei Erythrozyten und Leukozyten herausgefiltert werden und deren Einfluss nicht mehr gemessen werden kann. Schließlich wird berichtet, dass die Multiplate-Analyse sensitiver in der Messung von Thrombozytenaggregationshemmung sei als die LTA-Analyse (48).

1.5 Hypothesen und Zielsetzungen

In der Therapie schwerer angeborener Herzfehler, konnten bereits große Fortschritte erzielt werden. Durch Pränataldiagnostik und optimierte Operationstechniken sowie Nachbehandlung, konnte die Überlebensrate der Patienten verbessert werden (59-62). Nach wie vor aber stellt der Shunt-Verschluss nach dem ersten palliativen Eingriff eine gefürchtete Komplikation dar. Um dieses Risiko zu verkleinern wird ASS zur Prophylaxe eingesetzt. Es ist bekannt, dass nicht alle Patienten eine ASS-Wirkung aufweisen, weshalb versucht wird, die Therapie mittels Laboruntersuchungen zu überwachen. In einem vor kurzem erschienenen Review von Huang et al. (6), wird deutlich, dass es aktuell keine einheitliche Herangehensweise gibt, was die Auswahl der Funktionstests angeht. Es gibt eine Reihe verschiedener Testverfahren und gleichzeitigen Dissens bezüglich der Fragen nach Auswahl des Testverfahren, Grenzwerte für eine suffiziente Therapie, sowie der verwendeten Medikamente. Ebenfalls wird die Frage nach der klinischen Relevanz der Testungen aufgeworfen (6, 55). Im DHZB gehören die Multiplate- und LTA-Analyse seit mehreren Jahren zum Standard. Dabei hat sich in der klinischen Routine gezeigt, dass in der Multiplate-Analyse bei Patienten mit Shunt-abhängigem Herzfehler gehäuft unplausible Ergebnisse im Vergleich zum LTA-Ergebnis auftreten. Daraus ergibt sich für den Vergleich der beiden Testverfahren folgende Haupthypothese:

1. Die LTA-Analyse ist bei der vorliegenden Patientenkohorte besser für ein konsequentes ASS-Monitoring geeignet als die Multiplate-Analyse.

Dieser Annahme folgend wird postuliert:

2. Das Multiplate-Verfahren ist als Testverfahren ungeeignet, die ASS-Therapie bei Kindern mit Shunt-abhängigem vitium cordis zu monitorieren.

Für die Verifizierung dieser Hypothese, werden in dieser Studie beide Verfahren miteinander verglichen, aber auch einzeln in ihrer Fähigkeit überprüft, die ASS-Therapie zu überwachen. Dieser Vergleich ist erstmalig möglich, da beide Verfahren am DHZB simultan Anwendung finden. Im Zusammenhang mit dem Therapie-Monitoring soll sich der Frage gewidmet werden, ob mit Hilfe der Funktionstest ein potenzieller Shunt-Verschluss vorhergesagt werden kann. Daraus ergibt sich die Hypothese:

3. Thrombozytenfunktionstests können von Nutzen für das Früherkennen von Shunt-Verschlüssen sein.

Durch die Auswertung und den Vergleich der Verfahren soll außerdem der Frage nachgegangen werden, ob die in der Literatur beschriebenen Grenzwerte auch auf das hier zu Grunde liegende Patientenkollektiv zutreffen. Daher lautet eine weitere Hypothese:

4. Die in der Literatur beschriebenen Grenzwerte für die LTA – und Multiplate-Analyse sind bei Kindern mit AHF anwendbar.

In zweiten Teil der Arbeit wird der Frage nachgegangen, ob ein konsequentes Therapiemonitoring in vorgegebenen Studienzeitraum zur Anwendung kam. Daraus ergibt sich die Hypothese:

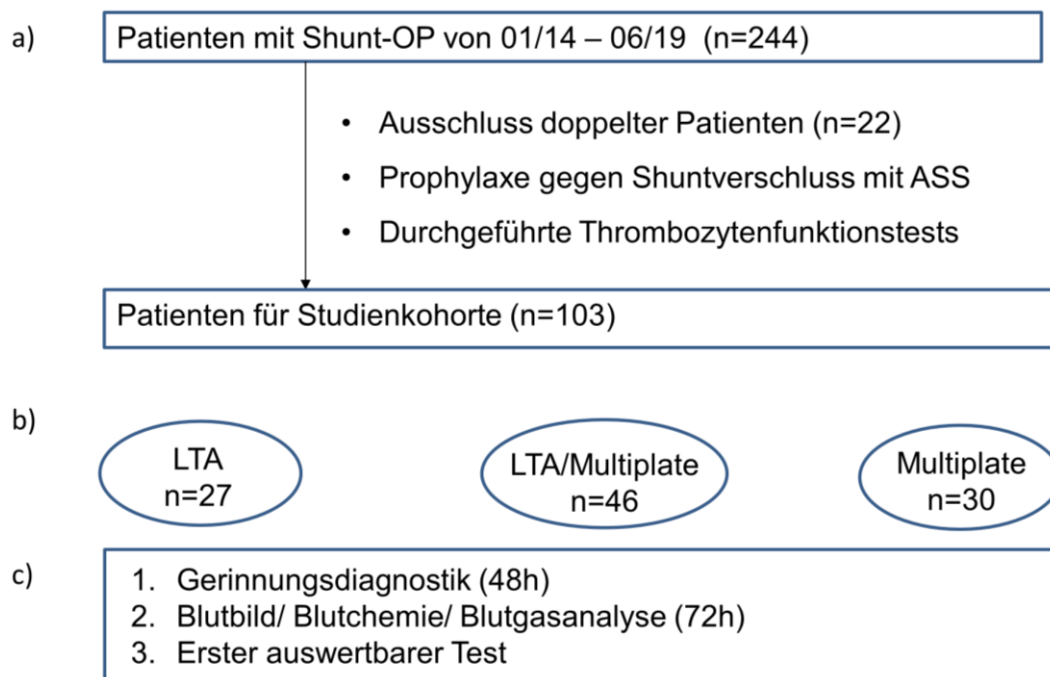
5. Im klinischen Alltag wird ein konsequentes Therapiemonitoring angewendet.

Um dies zu überprüfen, werden die ASS-Dosierung, das richtige Interpretieren der Funktionstests, Anpassung und Umstellung der Therapie sowie Testwiederholungen bei der vorliegenden Patientenkohorte ausgewertet. Ziel dieser Verfahrensanalyse ist, aus den vorliegenden Daten sowie anderen Forschungsarbeiten, eine Handlungsempfehlung für das Monitoring der ASS-Therapie zu erstellen. Mit der Standardisierung und dem Vergleich von Multiplate- und LTA-Analyse soll die Therapie bei Kindern mit schwerem angeborenem AHF weiter verbessert werden.

2 Methodik

2.1 Studiendesign

Es handelt sich hierbei um eine explorative retrospektive Querschnittstudie. Hauptaugenmerk liegt auf der Auswertung und dem Vergleich der beiden Thrombozytenfunktionstests LTA- und Multiplate-Analyse. Neben der Datenauswertung soll ebenfalls eine Verfahrensanalyse erfolgen, die sich mit dem Therapie-Monitoring der Patienten im DHZB beschäftigt. Ziel dabei ist, eine Handlungsempfehlung für die Anwendung der Testverfahren sowie der thrombozytenhemmenden Therapie zu entwickeln. Der Antrag für ein Ethikvotum wurde bei der Ethikkommission der Charité eingereicht und am 04.06.2019 bewilligt. (Antragsnummer: EA/073/19). Ebenso erfolgte eine Statistikberatung durch das Institut für Biometrie der Charité.



a) Patientenauswahl, b) Gruppenbildung, c) Auswahlkriterien bei Mehrfachtestung

Abbildung 5. Schema der Patientenauswahl für die Studie. Teilweise wurden Patienten im Verlauf mehrmals einer Shunt-Operation unterzogen, für die Studie aber nur einmal berücksichtigt. Neben der dargestellten Gruppeneinteilung können die doppelt getesteten Patienten auch der jeweiligen Einzelgruppen zugeordnet werden. Daraus ergeben sich für die LTA-Analyse 73 Patienten und für die Multiplate-Analyse 76 Patienten.

Durch die beschriebene Patientenauswahl lassen sich drei Gruppen anhand der durchgeführten Tests unterscheiden. In der ersten Gruppe werden Patienten beschrieben, bei denen sowohl eine LTA-Analyse als auch eine Multiplate-Analyse durchgeführt wurde. Im Folgenden wird diese Gruppe als Doppeltestungsgruppe bezeichnet. Als Doppeltestung wurden nur Tests gewertet, die innerhalb von 24 Stunden durchgeführt wurden. Dementsprechend wurden die anderen beiden Gruppen von Patienten gebildet, die entweder eine LTA-Analyse oder eine Multiplate-Analyse erhalten haben.

Patienten wurden teilweise mehrmals getestet. Mit dem Ziel einer einheitlichen Patientenkohorte wurden Kriterien definiert, die festlegen, welcher Funktionstest im Falle von Mehrfachtestung ausgewertet wird. „Mehrere Testungen“ bezieht sich auf verschiedene Untersuchungszeitpunkte. Dadurch wird für jeden Patienten nur ein Test oder eine Doppeltestung in die Auswertung aufgenommen.

Grundvoraussetzung für beide Tests ist, dass ein Arachidonsäure Testergebnis für die ASS Therapieüberwachung vorhanden ist. Durch die Fokussierung der vorliegenden Arbeit auf den Vergleich der beiden Testverfahren werden Doppeltestungen der jeweiligen Einzeltestung vorgezogen. Das erste nachgestellte Kriterium bei Vorliegen von zwei oder mehr Testungen ist das Vorhandensein von Gerinnungsparametern. Darauf folgen Bestimmungen des Blutbildes, der Blutchemie und einer Blutgasanalyse. Lässt sich keine Testung priorisieren, wird der zeitlich früher durchgeführte Test ausgewählt. Die ausgewählte Testung wird zusammen mit Patientencharakteristika und weiteren Tests oder laborspezifischen Daten in den Datensatz aufgenommen (s. Abbildung 6). Laborparameter werden mit in die Studie aufgenommen, wenn sie innerhalb der zeitlichen Grenzen liegen. Die Grenzen beziehen sich auf die Zeit vor oder nach dem Funktionstest.

Neben dem beschriebenen zentralen Datensatz wird ein weiterer Datensatz erstellt, in dem alle Funktionstestungen derselben Patientenkohorte dokumentiert werden. Dabei werden auch nicht auswertbare Tests berücksichtigt und die Fehlermeldungen aus dem Labor entsprechend festgehalten. Hierbei werden folglich auch mehrere Tests bei einem Patienten berücksichtigt. Die Aufstellung aller durchgeführten Tests soll eine Aussage darüber ermöglichen, wie verlässlich die Durchführbarkeit der verschiedenen

Testverfahren ist, und aus welchen Gründen eine Auswertung nicht möglich war. Der Datensatz dient als Grundlage für die Verfahrensanalyse des ASS-Monitorings bei der vorliegenden Patientenkohorte im DHZB.

Für die Auswertung der Funktionstestergebnisse wurden Grenzwerte bestimmt, die eine suffiziente ASS-Therapie definieren. Dabei liegen Werte aus der Literatur zu Grunde. Für das Multiplate-Verfahren wird ein Wert unter 30 AU bei der Verwendung von Arachidonsäure als Agonisten als suffiziente ASS-Therapie festgelegt (8). Für die LTA-Analyse wurden ebenfalls aus der Literatur stammende Grenzwerte herangezogen, um einen Grenzwert zu definieren für eine suffiziente ASS-Therapie. Dieser Grenzwert liegt bei unter 20% Aggregation bei der Verwendung von Arachidonsäure als Agonisten (55-57). Alle Grenzwerte stammen ursprünglich aus Studien, die bei Erwachsenen durchgeführt wurden. Diese finden aber auch Anwendung bei den wenigen pädiatrischen Studien zu dem Thema (7, 50, 55, 57).

2.2 Studienpopulation

In der vorliegenden Studie wurden alle Patienten betrachtet, die im Zeitraum vom 01.01.2014 bis zum 31.06.2019 in der Klinik für Angeborene Herzfehler /Kinderkardiologie am DHZB auf Grund eines AHFs operativ mit einem aortopulmonalen Shunt versorgt wurden. Zum Zeitpunkt der Operation durften die Patienten nicht älter als 18 Jahre sein. Grundvoraussetzung war außerdem die Therapie mit ASS zur Verhinderung eines Shuntverschlusses und die anschließende Durchführung eines Thrombozytenfunktionstests mit auswertbarem Ergebnis. Von insgesamt 222 operierten Patienten erfüllten 103 Patienten diese Kriterien.

2.3 Übersicht der analysierten Parameter

Patienten spezifische Charakteristika:	Testspezifische Parameter:	Laborparameter:
<ul style="list-style-type: none">• Art des Herzfehlers<ul style="list-style-type: none">• Ventrikel-Physiologie• Durchgeführte Operation<ul style="list-style-type: none">• Art des verwendeten Shunts• Größe des Shunts• Clippen des Shunts• HLM - Parameter<ul style="list-style-type: none">• Dauer von Perfusionszeit, Aortenklemmzeit und Reperfusionzeit• Anwendung von Hypothermie• Geburtsgewicht und Gestationsalter• Blutgruppe• Liegedauer auf Intensivstation• Dauer des Krankenhausaufenthaltes• Komplikationen: Shuntausstreichung, Shuntverschluss, Thrombose, Embolie, Reanimation und Todesfall	<ul style="list-style-type: none">• Testergebnis von LTA und oder Multiplate• Körpertemperatur (rektal oder Sonde), Alter, Gewicht und Transkutane Sättigung zum Messzeitpunkt• Heparinlaufrate:<ul style="list-style-type: none">• Maximal und zum Testzeitpunkt• ASS-Therapie<ul style="list-style-type: none">• Dosierung bei Testung• Anpassung nach der Testung• Umstellung auf oder ergänzende Clopidogrel-Therapie bei insuffizienter Plättchenhemmung• Transfusionstherapie bis 48h vor Testung und gesamt<ul style="list-style-type: none">• Erythrozyten-Konzentrat• Fresh-Frozen-Plasma• Thrombozyten-Konzentrat• Antitrombin-III• Octaplas LG• Transfusion über HLM	<ul style="list-style-type: none">• Blutbild• Ggf. Differentialblutbild• Blutgerinnung• Blutgasanalyse arteriell oder venös• Blutchemie• Falls vorhanden:<ul style="list-style-type: none">• ProBNP, Procalcitonin, IL-6

Abbildung 6. Darstellung der erhobenen Zielgrößen für die Studie. HLM= Herz-Lungen-Maschine, ProBNP= B-Typ natriuretisches Peptid, IL-6= Interleukin-6

Die Patientencharakteristika sind für die Auswertung allgemeingültig und unabhängig vom Zeitpunkt der Thrombozytenfunktionstestung. Für die testspezifischen Parameter wird anhand des Laborprogrammes der Zeitpunkt der Funktionstestung festgelegt. An diesem Zeitpunkt orientieren sich die anderen erhobenen Laborparameter. Die meisten hier aufgeführten Parameter werden einmal täglich bestimmt. Für das Körpergewicht, welches auf der Intensivstation nicht direkt bestimmt wird, wird die nächstmögliche Gewichtsmessung zu Rate gezogen. Ausgehend vom Testzeitpunkt können die Laborparameter ausgewählt werden. Dabei wird immer die zeitlich naheliegendste Blutuntersuchung gewählt.

Die Gerinnungswerte dürfen dabei nicht weiter als 48 Stunden von der Funktionstestung entfernt sein. Für Blutbild, Blutchemie und Blutgasanalyse (BGA) sind hierbei Grenzen von 72 Stunden festgelegt. Bei der BGA wird eine arterielle Bestimmung der venösen vorgezogen. Liegen keine Blutwerte in den entsprechenden Zeitfenstern vor, werden die Werte als fehlend eingetragen. Als langfristiger Marker für Herzinsuffizienz wird ProBNP ohne zeitliche Grenze in den Datensatz aufgenommen. Liegen mehrere Werte vor, wird der zeitlich nächste zur Funktionstestung gewählt.

2.4 Statistische Analyse

Die Erhebung der Daten erfolgte aus den am DHZB verwendeten Programmen M-Life (medisite GmbH, Hannover) und Medfolio (nexus AG, Berlin) sowie das SAP-Patientenmanagementsystem der Charité. Für die statistische Aufarbeitung des Datensatzes wurde das Programm IBM SPSS Statistics 26® (Armonk, USA) verwendet. Für die grafische Darstellung der Ergebnisse kommen zusätzlich GraphPad Prism von GraphPad Software Inc. (La Jolla, USA), Powerpoint sowie Excel (Microsoft Corp.) zum Einsatz. Die gewonnenen Daten wurden auf Normalverteilung geprüft. Für normalverteilte Parameter wurde für die statistische Analyse der t-test für unverbundene Stichproben angewendet und der Mittelwert als Lagemaß angegeben. Hierbei wurde ebenfalls die Standardabweichung (SD) und das Konfidenzintervall (KI95%) verwendet. Bei nicht-normalverteilten Parametern kam der Mann-Whitney-U-Test zum Einsatz. Hierbei wurde der Median als Lagemaß und der Interquartilsabstand als Streuungsmaß angegeben. Für die Analyse der Unabhängigkeit zweier oder mehrerer nominaler Parameter bei unverbundenen Stichproben wurde der χ^2 -Test (Chi-Quadrat-Test)

angewandt. Lag dabei die Stichprobengröße unter 20 oder die erwartete Zellenhäufigkeit ≤ 5 , wurde der exakte Test nach Fisher verwendet. Gab es nur einen Freiheitsgrad, wurde die Korrektur nach Yates berechnet. Für die Analyse von Zusammenhängen zweier Variablen kam der bivariate Korrelationskoeffizient nach Pearson für normalverteilte Variablen zur Anwendung und für nicht normalverteilte Variablen der Korrelationskoeffizient nach Spearman. Die Stärke des Zusammenhangs wurde nach Cohen interpretiert. Dabei entspricht $r = 0,1$ einem schwachen Effekt, $r=0,3$ einem mittleren Effekt und $r=0,5$ einem starken Effekt. Als Maß für die Übereinstimmung beider Analyseverfahren wurde Cohens Kappa bestimmt (63). Für die Interpretation des Kappa-Wertes wurde die Vorlage von Landis und Koch herangezogen (64). Für alle statistischen Auswertungen wurde $p < 0,05$ als statistisch signifikant angenommen (65, 66).

3 Ergebnisse

3.1 Studienpopulation

Für die vorliegende Studie konnten im Zeitraum von 2014 bis 2019 insgesamt 103 Patienten eingeschlossen werden. Bei allen Patienten erfolgte im Rahmen des Krankenhausaufenthaltes zur Shunt-Operation mindestens eine Thrombozytenfunktionsdiagnostik. Mit Hilfe der vorgegebenen Auswahlkriterien wurde bei mehrfach getesteten Patienten ein Funktionstest identifiziert und in die Studie eingeschlossen. Dabei wurden bei den 103 Patienten insgesamt 315 Funktionstestungen durchgeführt.

Table 1. Demographische Daten des Patientenkollektivs

	n	Anteil	Mittelwert [SD; KI]	Median [IQA]
Männlich Patienten	51	49.5%		
Weibliche Patienten	52	50.5%		
Krankenhausaufenthalt <i>in Tagen</i>	103			49 [27-89]
ITS-Dauer <i>in Tagen</i>	103			14 [7-22]
Geburtsgewicht <i>in Gramm</i>	88		3067 [767; 2904-3229]	
Normalgewicht ($\geq 2500g$)	72	81.8%		
Untergewicht (1500g-2499g)	12	13.6%		
Starkes Untergewicht (<1500g)	4	4.5%		
Gestationsalter (<i>in Wochen + Tagen</i>)	91			39+0 [38+0-41+1]
Entwicklung (<i>nach Fenton</i>)				
Hypotroph	11	10.7%		
Eutroph	68	66%		
Hypertroph	7	6.8%		

Anmerkung. n = Stichprobengröße, SD = Standardabweichung, KI = 95% Konfidenzintervall, IQA = Interquartilsabstand, ITS = Intensivstation, Körperliche Entwicklung nach Fenton = Gegenüberstellung von Gestationsalter und Geburtsgewicht

Die demographischen Charakteristika des Patientenkollektivs sind in Tabelle 1 dargestellt. In Tabelle 2 sind die Parameter der durchgeführten Shunt Operationen aufgeführt.

Tabelle 2. Shunt-Operation

	n	Anteil	Mittelwert [SD; KI]	Median [IQA]
Alter bei Operation in Tagen	103			33 [9-136]
Art des Shunts				
mBT-Shunt	77	74.8%		
zentraler AP-Shunt	26	25.2%		
Clippen des Shunts				
Ja	66	64.1%		
Nein	37	35.9%		
Operation unter Hypothermie				
Ja	69	67%		
Nein	34	33%		
HLM-Parameter				
Perfusionszeit in Minuten	83		205 [92; 185-225]	
Aortenklemmzeit in Minuten	65			52 [48-58]
Reperfusionzeit in Minuten	65			56 [47-68]
Shunt-Größe in mm				
≤3mm	3	2.9%		
3,5mm	31	30.1%		
4mm	46	44.7%		
5mm	16	15.5%		
≥6mm	7	6.8%		

Anmerkung. n = Stichprobengröße, SD = Standardabweichung, KI = 95% Konfidenzintervall, IQA = Interquartilsabstand, ITS = Intensivstation, mBT-Shunt = modifizierter Blalock-Taussig-Shunt, AP-Shunt= Aortopulmonaler Shunt, HLM= Herz-Lungen-Maschine

Von den 103 Patienten wurden 50 Patienten (48,5%) in der Neonatalperiode (bis zum 30. Lebensstag) operiert. 40 Patienten (38,8%) wurden im Säuglingsalter bis zum Ende des ersten Lebensjahres operiert, davon wiederum 23 im zweiten oder dritten Lebensmonat. 13 Patienten (12,6%) waren älter als ein Jahr. Bei 66 Patienten, deren Shunt mittels eines Clips verkleinert wurde, erfolgte in 63,6% der Fälle die Verkleinerung bereits intraoperativ. Bei den verbliebenen Patienten wurde der Shunt zu einem späteren Zeitpunkt verkleinert.

Bei den Routinelaborparametern in Tabelle 3 fällt die verlängerte PTT auf, die auf eine Heparin-Therapie zurückzuführen ist. Daneben ist die Fibrinogen-Konzentration leicht erhöht und Albumin erniedrigt.

Tabelle 3. Routinelabor des Patientenkollektivs

	n	Referenzwerte	Mittelwert [SD; KI]	Median [IQA]
Thrombozyten (K/μl)	101	140-440		242 [177.5-366.5]
Leukozyten (K/μl)	102	6.5-15	11.77 [4.8;10.8-12.7]	
Hämoglobin (g/dl)	102	9.2-16.6	16.2 [1.5;15.9-16.5]	
Hämatokrit (%)	102	30-54	48.6 [4.5;47.7-49.4]	
PTT (s)	100	24-36	68 [23.6;63.7-73.1]	
Fibrinogen (mg/dl)	96	180-350	404 [119;380-428]	
AT-III (%)	97	55-130	78 [21;73-82]	
TPZ (%)	100	53-100	81 [15.6;78-84]	
INR	101	0.85-1.15		1.1 [1.09-1.22]
Harnstoff (mg/dl)	93	15-36		31.7 [23.3-46.2]
Kreatinin (mg/dl)	95	0.4-0.7	0.41 [0.1;0.39-0.44]	
GOT/AST (u/l)	12	<45		30 [19.8-40.3]
GPT/ALT(u/l)	87	<40		9 [9-14]
Albumin (g/dl)	92	3.6-5	2.37 [0.6;2.25-2.5]	
CRP (mg/dl)	101	0-0.5		2.5 [1-5.5]

Anmerkung. Auf Grund der Auswahlkriterien der Laborwerte - im zeitlichen Zusammenhang zur Funktionsdiagnostik – ergibt sich die unterschiedliche Anzahl bei den Werten, n = Stichprobengröße, SD = Standardabweichung, KI = 95% Konfidenzintervall, IQA = Interquartilsabstand, PTT= partielle Thromboplastinzeit, AT-III= Antitrombin-III, TPZ= Thromboplastinzeit (Quick-Wert), INR= International Normalized Ratio, GOT/AST= Aspartat-Aminotransferase, GPT/ALT= Alanin-Anomotransferase, CRP= C-reaktives Protein

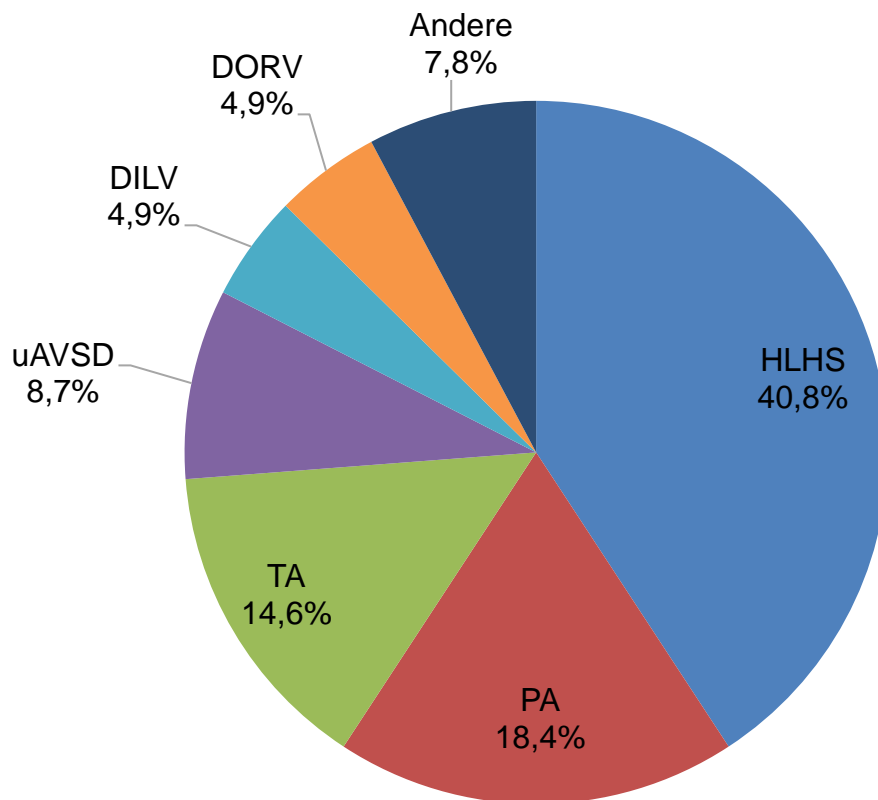


Abbildung 7. Verteilung der angeborenen Herzfehler innerhalb der Studie (n=103). DILV= „double inlet left ventricle“ (n=5) , DORV = „double outlet right ventricle“ (n=5), HLHS= Hypoplastisches Linksherzsyndrom (n=42), PA= Pulmonalatresie (n=19), TA= Trikuspidalatresie (n=15), uAVSD= unbalancierter atrioventrikulärer Septumsdefekt (n=9), Andere: komplexe Transposition der großen Arterien mit Ventrikelseptumdefekt (n=3), Ebstein-Anomalie (n=1), Truncus arteriosus communis (n=1), balancierter atrioventrikulärer Septumdefekt (n=1)

Dem untersuchten Patientenkollektiv lagen vor allem drei Krankheitsbilder zu Grunde, die eine Indikation zur operativen Versorgung mittels eines aortopulmonalen Shunts darstellten. Diese sind in Abbildung 7 dargestellt. Es wurde die Ventrikel-Physiologie der Patientenkohorte bestimmt. In 54 Fällen (52.4%) liegt ein funktionell rechter Ventrikel vor, bei 43 Patienten (41.7%) ein funktionell linker Ventrikel. Zwei Patienten weisen eine ausgeglichene Physiologie auf und vier Patienten können nicht kategorisiert werden.

Tabelle 4. Komplikationen in der Studienkohorte

	n	Anteil	Mittelwert [SD; KI]	Median [IQA]
Shuntverschluss	14	13.6%		
Am OP-Tag	4	28.6%		
Am 1. Post-OP Tag	4	28.6%		
5.-14. Post-OP Tag	2	14.3%		
>14 Tage nach OP	4	28,5%		
Abstand OP- Verschluss				1 [0-18]
Shuntausstrich	11	10.7%		
Thrombose	5	4.9%		
Embolie	0			
Reanimation	27	26.2%		
Todesfall	10	9.7%		
Abstand OP-Todesfall			74 [50;38-109]	

Anmerkung. n = Stichprobengröße, SD = Standardabweichung, KI = 95% Konfidenzintervall, IQA = Interquartilsabstand

Für die Studienhypothese, inwiefern ein ASS-Monitoring für die Vorhersage eines Shunt-Verschlusses von Nutzen sein kann, wurden die Komplikationen bei den Studienpatienten ausgewertet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 dargestellt. Bei 11 der 14 Patienten mit einem Shunt-Verschluss wurde dieser operativ ausgestrichen. Bei den verbleibenden drei Patienten erfolgte eine interventionelle Stent-Therapie im Herzkatheterlabor. In acht Fällen trat der Verschluss am OP-Tag oder am ersten postoperativen Tag auf. Die übrigen Verschlüsse ereigneten sich im späteren Verlauf. 13 Patienten standen zum Zeitpunkt des Verschlusses unter Heparin-Therapie. Einer dieser Patienten wurde zusätzlich mit ASS therapiert. Ein Patient stand zum Zeitpunkt des Verschlusses ausschließlich unter ASS-Therapie. Hier trat das Ereignis bei einem komplikationsreichen postoperativen Verlauf am 30. Tag nach der OP auf. Dieser Patient wurde vor dem Ereignis nicht auf die Wirksamkeit der ASS-Therapie untersucht. Später durchgeführte LTA-Analysen zeigten eine suffiziente Hemmung.

Bei zwei Patienten mit Shunt-Verschluss wurde jeweils eine Multiplate-Testung 7 bzw. 10 Tage vor Auftreten des Verschlusses durchgeführt. Beide Tests zeigten eine insuffiziente Hemmung an, einer der beiden Patienten stand zu diesem Zeitpunkt nicht unter ASS-Therapie. Beide Patienten wurden im späteren Verlauf noch mehrmals getestet und zeigten eine suffiziente Hemmung in der LTA-Analyse, wohingegen die jeweils weiteren Multiplate-Analysen kein suffizientes Testergebnis ergaben. Insgesamt zeigten zwölf der 14 Patienten mit einem Shunt-Verschluss im Verlauf eine suffiziente Hemmung in einer Funktionstestung. Bei den zwei verbleibenden Patienten ereignete sich der Verschluss intraoperativ beziehungsweise einen Tag nach der Operation.

Bei fünf Patienten wurden andere Thrombose beschrieben. Hierbei handelte es sich in drei Fällen um einen (Teil-)Verschluss der Vena cava inferior, in einem Fall lag eine Thrombose der Vena cava superior vor und einmal trat ein Verschluss der Vena femoralis auf. Von den zehn Patienten der Studienkohorte, die verstarben, ereignete sich bei einem Patienten ein Shunt-Verschluss. Der Todesfall ereignete sich 107 Tage nach dem Verschluss.

Tabelle 5. Vitalparameter der Patienten zum Testzeitpunkt

	n	Mittelwert [SD; KI]	Median [IQA]
Vitalparameter zum Testzeitpunkt	103		
Alter <i>in Tagen</i>			53 [24-151]
Körpertemperatur <i>in °C</i>		37,1 [0.48; 37-37.2]	
Körpergewicht <i>in kg</i>			4,17 [3.475-5.44]
Transkutane Sättigung <i>in %</i>		82,9 [4.24; 82-83.7]	
Abstand OP zu Testung <i>in Tagen</i>	103		13 [8-20]
Medikation zum Testzeitpunkt			
ASS-Dosis gesamt <i>in mg</i>	103		15 [12.5-20]
ASS-Dosis relativ <i>in mg/kgKG</i>	103	3,8 [0.84; 3.6-4]	
Clopidogrel gesamt <i>in mg</i>	3		0,8
EK-Transfusion <i>in ml</i>	20		78 [60-100]
FFP-Transfusion <i>in ml</i>	2	428	
AT-III-Transfusion <i>in ml</i>	30	250 [115; 207-293]	
Heparinlaufrate <i>in IE/kgKG/d</i>	87	523 [182; 484-561]	

Anmerkung. n = Stichprobengröße, SD = Standardabweichung, KI = 95% Konfidenzintervall, IQA = Interquartilsabstand, EK= Erythrozytenkonzentrat, FFP= „Fresh-Frozen-Plasma“, AT-III= Antithrombin-III-Konzentrat, Menge der Blutprodukte bezogen auf 48 Stunden vor Funktionstestung, Heparinlaufrate zum Testzeitpunkt, IE/kgKG/d= Flussrate Internationale Einheiten pro Kilogramm Körpergewicht pro Tag

Ergänzend zur allgemeinen Charakterisierung der Patienten wurden Vitalparameter und Medikationen zum Testzeitpunkt ausgewertet. Diese sind in Tabelle 5 dargestellt. Weitere Blutprodukte, welche die Patienten bekamen, waren Thrombozyten-Konzentrate und Octaplas LG ®. Diese wurden aber bei keinem Patienten im vorgegebenen Zeitraum von 48 Stunden vor der Thrombozytenfunktionstestung verabreicht. Bei 16 Patienten war die Heparin-Medikation mittels Perfusor bereits abgesetzt.

3.2 Vergleich der Testverfahren

3.2.1 Verwendete Testverfahren

In den Abbildungen 8-12 sind die durchgeführten Funktionstestungen dargestellt. Dabei wurden die im Methodenteil beschriebenen Kriterien angewendet für eine Kohorte, in der jeder Patient durch eine Testung oder beide Tests zum selben Zeitpunkt vertreten ist. In der Abbildung 8 sind die daraus entstehenden Gruppen dargestellt. Zwei Gruppen mit jeweils einem Testverfahren (n=57) und eine Gruppe, bei der beide Verfahren zur Anwendung gekommen sind (n=46). Daraus ergeben sich bei einer Studienkohorte von 103 Patienten insgesamt 149 Testungen, die sich in 76 Multiplate-Analysen und 73 LTA-Analysen aufteilen.

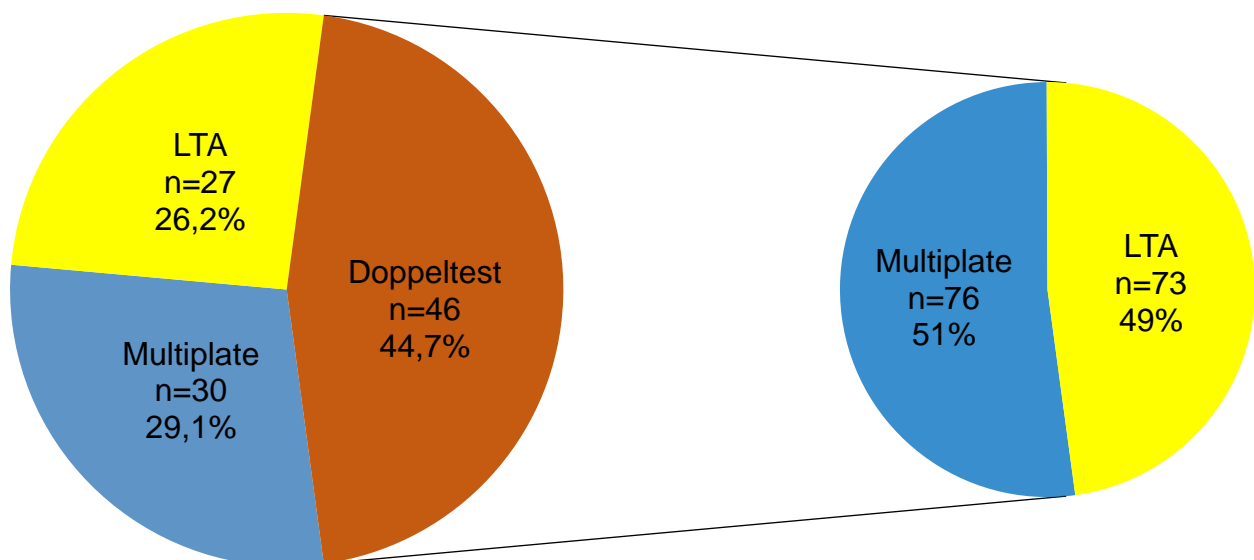


Abbildung 8. Darstellung der durchgeführten Funktionstests. Links: Aufteilung der Patientenkohorte nach Testverfahren: Einzeltestung (blau, gelb) und beide Verfahren (braun). Rechts: Darstellung aller durchgeführten Funktionstests in der Kohorte n=103.

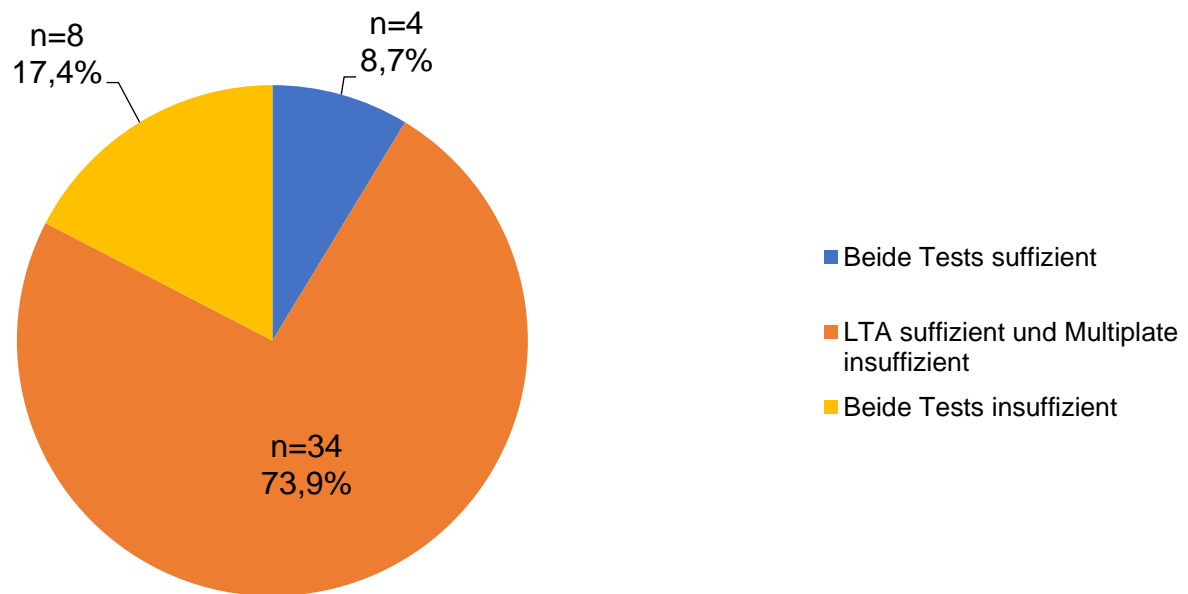


Abbildung 9. Darstellung der ASS-Testergebnisse in der Doppeltestungsgruppe. Als suffizient wurden folgende Ergebnisse definiert: LTA \leq 20% und Multiplate \leq 30AU. n=46

In Abbildung 9 sind die Testergebnisse jener Patienten aufgeführt, bei denen gleichzeitig eine Multiplate- und LTA-Analyse durchgeführt wurde. Dabei standen alle Patienten unter ASS-Therapie. Auffällig sind die divergenten Testaussagen. Von 46 Patienten, bei denen beide Verfahren zur Anwendung kamen, weisen nach der Multiplate-Analyse vier (8,7%) eine suffiziente Thrombozytenhemmung auf, bei der LTA-Analyse sind es 38 (82,6%). Vor allem fällt das unterschiedliche Testergebnis bei 34 (73,9%) Patienten auf. Dabei ist immer das LTA-Ergebnis suffizient und das Multiplate-Ergebnis insuffizient. Auf die genauen Ergebnis-Werte der Testungen wird später detailliert eingegangen.

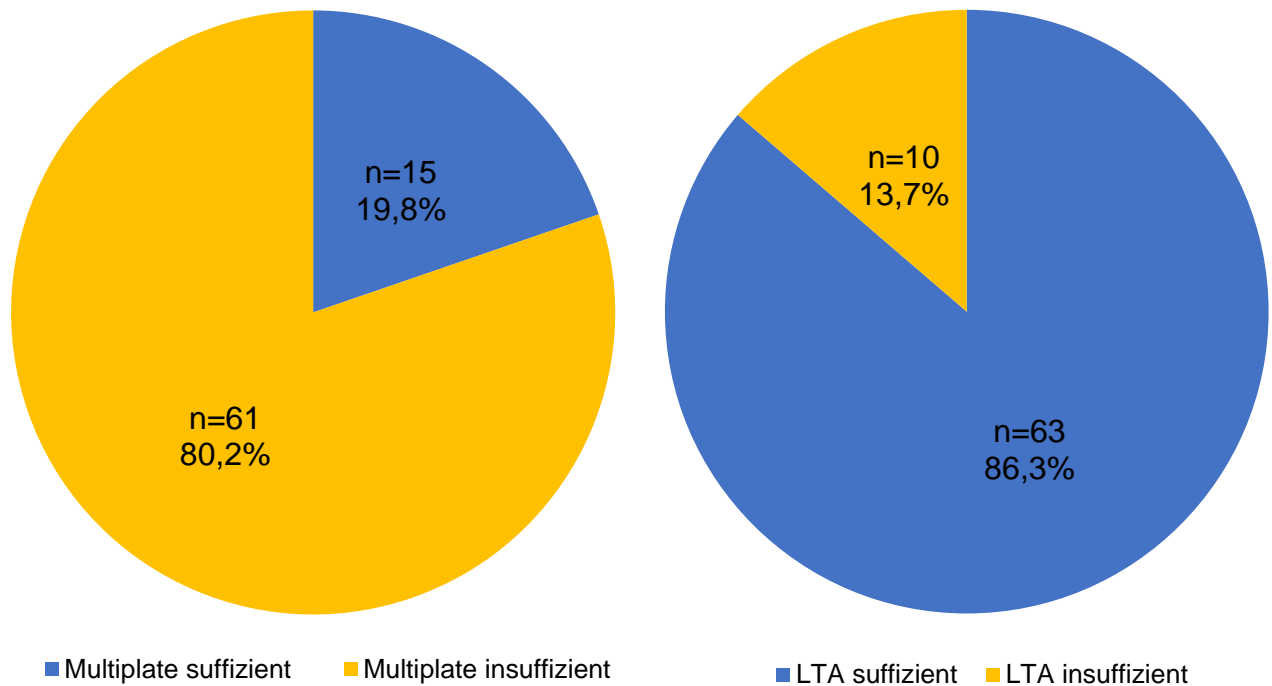


Abbildung 10. Darstellung der Ergebnisse aller Multiplate-Testungen. Als suffizient werden Ergebnisse $\leq 30U$ gewertet. n=76

Abbildung 11. Darstellung der Ergebnisse aller LTA Testungen. Als suffizient werden Ergebnisse $\leq 20\%$ gewertet. n=73

In der Abbildungen 10 und 11 sind die beiden Testverfahren separat aufgeführt. Dabei sind alle 149 Testverfahren berücksichtigt, sowohl Einzel- als auch Doppeltests. Alle getesteten Patienten stehen unter ASS-Therapie. Von den 76 Patienten, bei denen eine Multiplate-Analyse durchgeführt wurde, zeigen 15 Patienten ein suffizientes Testergebnis (19,8%). Bei der LTA-Analyse zeigen von 73 Patienten 63 ein suffizientes Testergebnis, damit liegt die Suffizienzrate bei 86,3%. Der Frage, ob bei der Multiplate-Analyse falsche Grenzwerte angewendet wurden wird später nachgegangen.

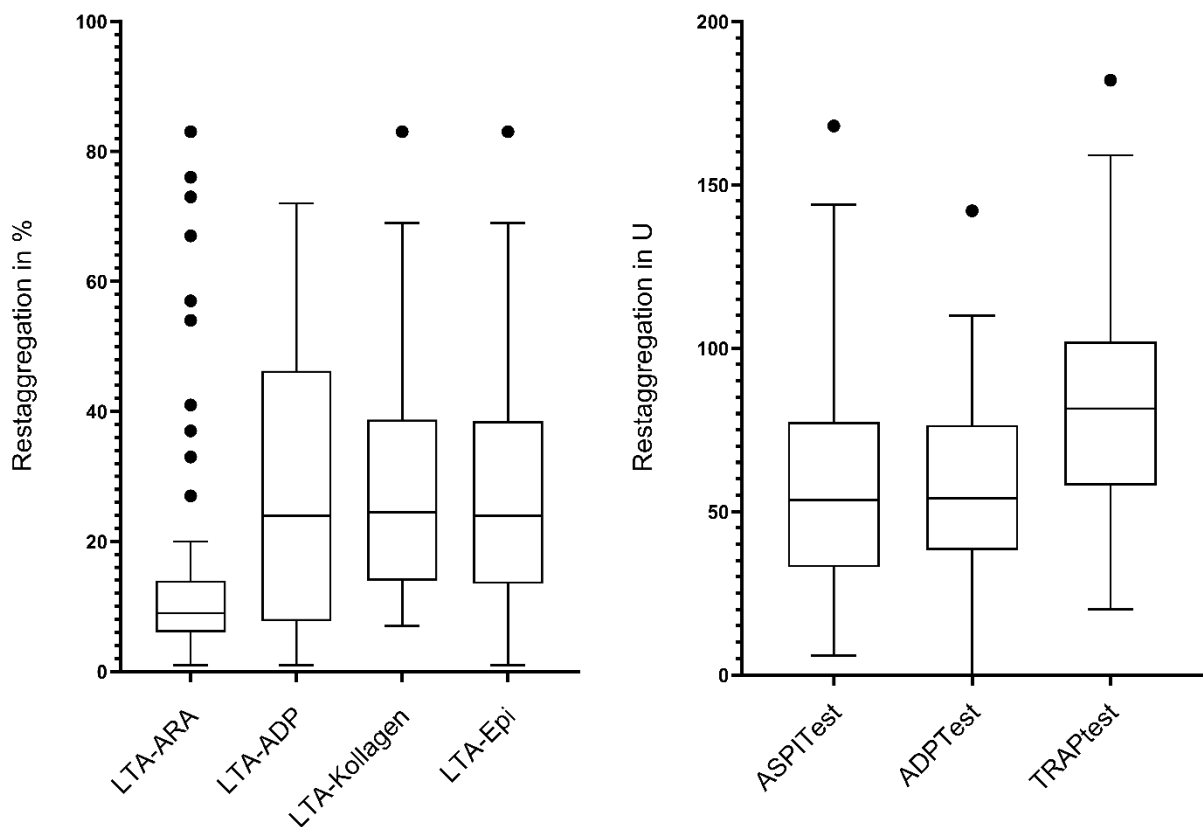


Abbildung 12. Darstellung der Testergebnisse bei den jeweilig verwendeten Reagenzien. Links LTA: Arachidonsäure, ADP, Kollagen und Epinephrin (n=73). Rechts: Multiplate: Arachidonsäure, ADP und TRAP (n=76)

In Abbildung 12 sind die Ergebnisse der Funktionstestung nach jeweilig verwendetem Reagenz dargestellt. Bei der LTA-Analyse fällt der deutlich geringere Wert bei Arachidonsäure auf, der die ASS-Therapie anzeigt. Bei der Multiplate-Analyse ist sowohl Arachidonsäure als Testkanal für die ASS-Therapie, als auch ADP als Testkanal für die Clopidogrel-Therapie im Vergleich zu TRAP geringer. Der ADP-Kanal dient zur Testung der Wirkung von Clopidogrel. Dabei standen zum Testzeitpunkt drei der 103 Patienten unter Clopidogrel-Therapie. Bei dem Vergleich der angewendeten ASS-Dosierungen zeigt sich kein Unterschied ($p=0,5$, [KI=-0,19- 0,38]). Bei der LTA- Analyse liegt die mittlere Dosierung bei 3,8 mg/kgKG, bei der Multiplate-Analyse liegt die Dosierung bei 3,9 mg/kgKG.

3.2.2 Gesamtanalyse aller durchgeführten Tests

Für diesen Teil der Studie wurden alle Thrombozytenfunktionstests ausgewertet, die bei pädiatrischen Patienten mit aortopulmonalem Shunt durchgeführt wurden. Dabei wurden zunächst auch jene Tests berücksichtigt, bei denen die Patienten keine ASS-Medikation erhielten. Folglich wurden auch mehrere Tests pro Patienten ausgewertet. Ziel dieser Auswertung ist es, die beiden Verfahren auf ihre Durchführbarkeit zu vergleichen.

In der Klinik für Angeborene Herzfehler-Kinderkardiologie wurden im Zeitraum vom 01.01.2014 bis zum 31.06.19 222 Patienten mittels eines aortopulmonalen Shunts versorgt. Bei 108 dieser Patienten wurden insgesamt 320 Testungen durchgeführt. Dabei kamen 139 LTA-Analysen und 181 Multiplate-Analysen zum Einsatz. In 81 Fällen wurde eine Doppeltestung durchgeführt. Bei den 103 Patienten, welche schließlich in die Studie aufgenommen wurden, wurden insgesamt 315 Testungen durchgeführt. Davon erhielten 48 Patienten eine Testung, was entweder einer Multiplate oder LTA-Analyse oder beiden Verfahren zum selben Zeitpunkt entspricht. 25 Patienten wurden 2-mal getestet, 17 Patienten 3-mal. Die verbliebenen 12 Patienten wurden mehr als 3-mal, in einem Fall bis zu 8-mal getestet. 87,4% der Patienten erhalten also zwischen ein und drei Testungen.

In der Gesamtanalyse aller Testverfahren zeigten 17 Patienten nie ein suffizientes Ergebnis. Im Vergleich dieser Patienten mit jenen, die mindestens in einem Test eine suffiziente Hemmung zeigten (n=86), fielen einige Unterschiede auf. Die 17 Patienten lagen im Median 17 Tage kürzer im Krankenhaus ($p=0,028$) und erhielten mit 3,42 mg/kgKG gegenüber 3,88 mg/kgKG eine geringere ASS-Dosierung als die übrigen Patienten ($p=0,038$, KI= 0,025-0,9). Ein Unterschied in der Anzahl der durchgeführten Testungen pro Patienten ergab sich nicht ($p=0,981$).

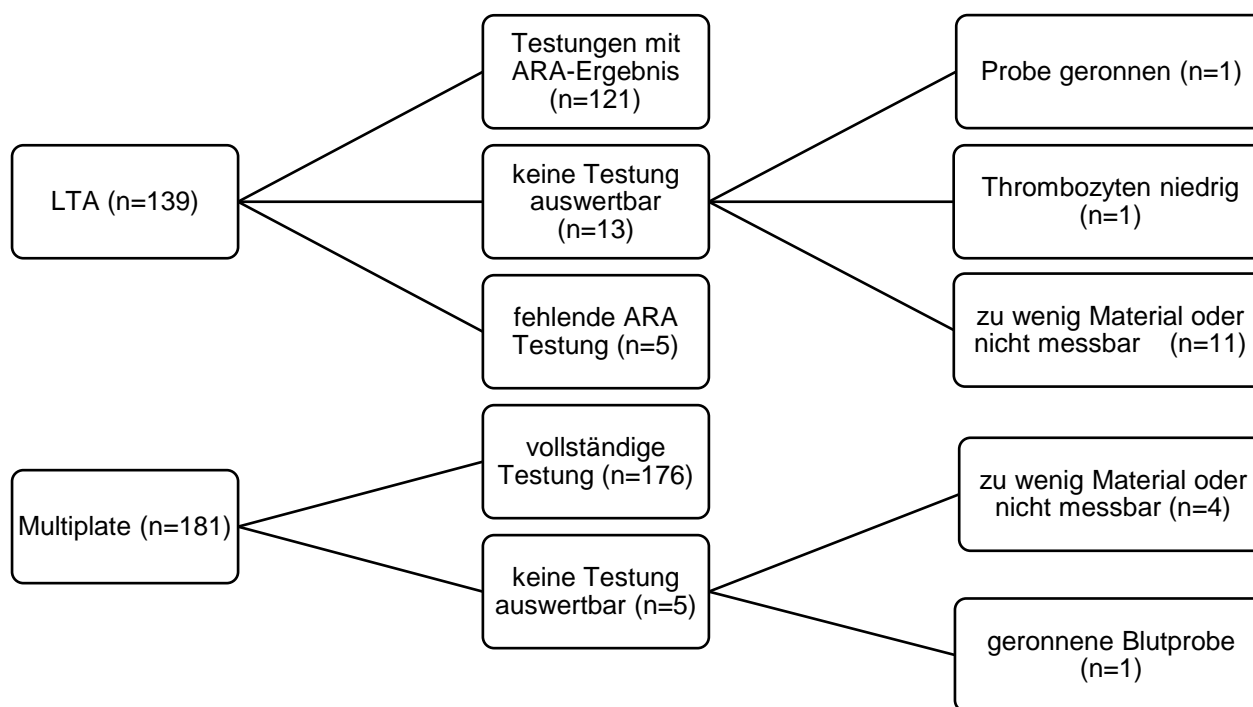


Abbildung 13. Darstellung aller im Studienzeitraum durchgeführten Funktionstestungen. Aufgeführt sind auch jene Tests, bei denen der Patient keine ASS-Therapie erhalten hat. ARA = Arachidonsäure.

Von 139 durchgeführten LTA-Analysen konnte in 121 Fällen mindestens ein auswertbarer Arachidonsäure Test durchgeführt werden (Abbildung 13). Dies entspricht einer Erfolgsrate von 87,1%. Bei fünf Testungen konnte eine Auswertung anderer Agenzien (ADP, Kollagen oder Epinephrin) durchgeführt werden, ein Ergebnis für Arachidonsäure fehlte. Ein Grund für die Durchführung der LTA-Analysen mit anderen Reagenzien wurde nicht dokumentiert. Bei den verbliebenen 13 Proben konnte wegen fehlerhaftem Probenmaterial keine der Testungen durchgeführt werden, was einer Fehlerquote von 9,4% entspricht. Bei der Multiplate-Analyse zeigte sich, dass 5 von 181 Testungen fehlerhaft waren, was einer Fehlerquote von 2,8% entspricht. Hierbei ist anzumerken, dass nicht alle Testungen während einer ASS-Therapie durchgeführt wurden. Andere Indikationen für einen Funktionstest gingen aus der elektronischen Patientenakte nicht hervor.

Ergänzend zu den Analysen der allgemeinen Auswertbarkeit der Tests wurde auch bei der Gesamtschau aller durchgeführten Tests dokumentiert, wie oft ein Test eine suffiziente Thrombozytenaggregationshemmung durch ASS angezeigt hat (Vgl. Abbildung 8) Dazu wurden 28 Testungen ausgeschlossen, bei denen keine ASS-

Therapie bestand (n=292). Von den 128 verbliebenen LTA-Analysen zeigten 95 ein suffizientes Ergebnis an (74,2%), 17 eine insuffiziente Hemmung (13,3%) und 16 waren nicht auswertbar (12,5%). Alle fünf LTA-Analysen, welche keinen Arachidonsäure-Test beinhalten, andere Reagenzien aber schon, wurden vor 2016 durchgeführt. Bei den Multiplate-Testungen blieben nach Abzug der Tests ohne ASS-Therapie 164 übrig. Davon zeigten 34 eine suffiziente Hemmung (20,2%), 129 eine insuffiziente Hemmung (76,8%) und 5 Proben waren nicht auswertbar (3%). Bei der Auswertung aller Tests mit einem Ergebnis -in dem Fall sind auch mehrere Tests pro Patienten berücksichtigt worden- zeigt sich eine sehr ähnliche Verteilung wie in den Abbildungen 8-11. Von den 292 Testungen, die unter ASS-Therapie durchgeführt wurden, waren 76 Doppeltestungen. Von diesen waren 10 nicht auswertbar. Von den 66 verbliebenen Doppeltestungen zeigten 7 (10,6%) in beiden Verfahren ein suffizientes Ergebnis, 46 (69,7%) sind in der LTA-Analyse positiv (suffiziente Hemmung) und in der Multiplate-Analyse negativ (insuffiziente Hemmung) und in 6 (9,7%) Fällen waren beide Analysen insuffizient. Dies entspricht ebenso den Ergebnissen der ersten Auswertungen.

3.2.3 Anpassung der Multiplate Grenzwerte

Betrachtet man die geringe Anzahl der Patienten, die laut der Multiplate-Analyse eine suffiziente Thrombozytenhemmung durch ASS zeigen, kann dies an zu wenig gesetzten Grenzwerten liegen. Eine Möglichkeit zur Ermittlung eines Grenzwertes für die Multiplate-Analyse ist die Bestimmung einer ROC-Kurve (*Receiver Operating Characteristic*). Als Grundlage für die Berechnung wurden die Ergebnisse der LTA-Analyse als richtig bestimmt und die Multiplate-Ergebnisse dazu im Verhältnis betrachtet. Für die ROC-Kurve ergibt sich eine Fläche unter der Kurve von 0,758 ($p=0,023$; KI95%: 0,574-0,942). Dies entspricht einer mittleren Testgüte. Dieses Ergebnis bestätigt die zuvor beschriebene schlechte Übereinstimmung der beiden Testverfahren. Mit Hilfe der ROC-Kurve wurde ein Grenzwert für die Multiplate-Analyse ermittelt, mit möglichst hoher Sensitivität und Spezifität (65). Dabei ergibt sich für den Grenzwert 69 AU eine Sensitivität von 69% und eine Spezifität von 65,8%. Dieser Grenzwert entspricht dem unteren Normbereich des Multiplate-Verfahrens, wenn keine Therapie angewendet wird. Dabei sind 53 von 76 Multiplate-Testungen (69,7%) suffizient. Dieses Ergebnis liegt weiterhin unter der Rate der LTA-Analyse, bei der unter den initial verwendeten

Grenzwerten 63 von 73 getesteten Patienten (86,3%) eine suffiziente Therapie aufweisen.

3.2.4 Korrelation zwischen ASS und Testergebnis

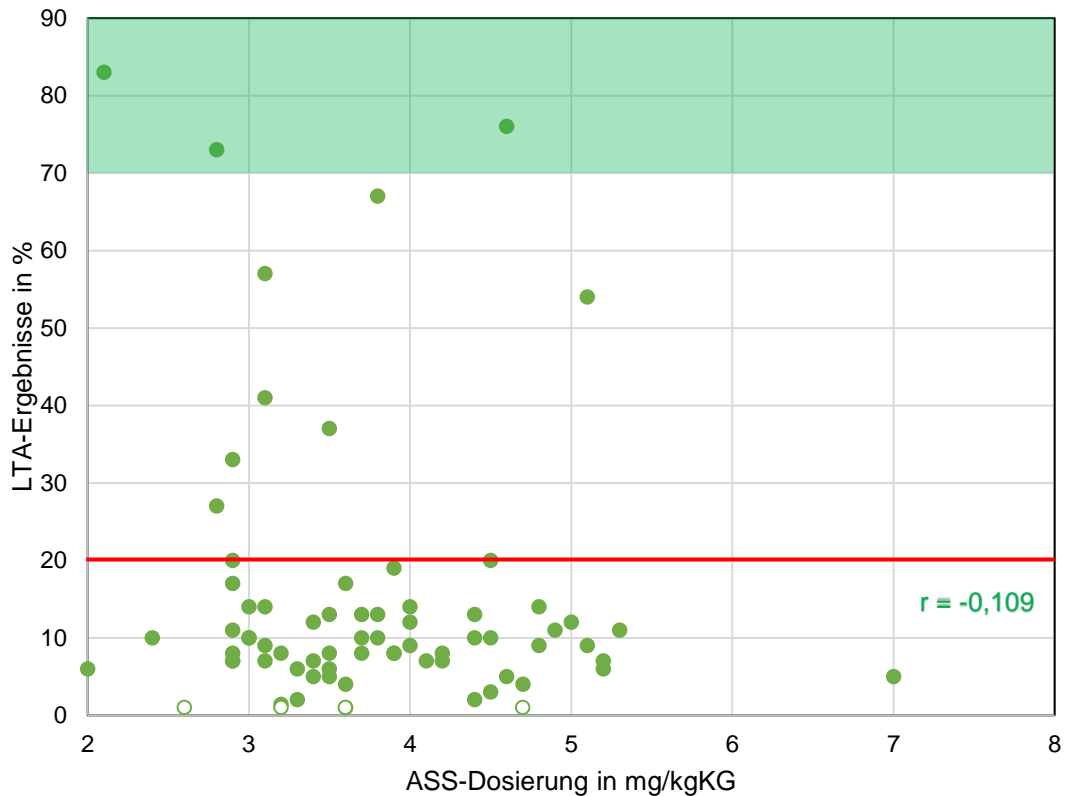


Abbildung 14. Streudiagramm der Korrelation zwischen LTA-Testergebnis (Arachidonsäure) und der verabreichten ASS – Dosierung. (n=73), Der grüne Balken stellt den Normbereich von 70-90% Restaggregation bei Arachidonsäure ohne Therapie dar. Die rote Linie definiert die Grenze, unter der von einer suffizienten Therapie ausgegangen wird (<20%). r = Korrelationskoeffizient nach Spearman. Kreise geben die fünf Testwerte an, die im System als <1 angegeben wurden und für die Bestimmung der Korrelation =1 gesetzt wurden. Zwei Kreise liegen übereinander

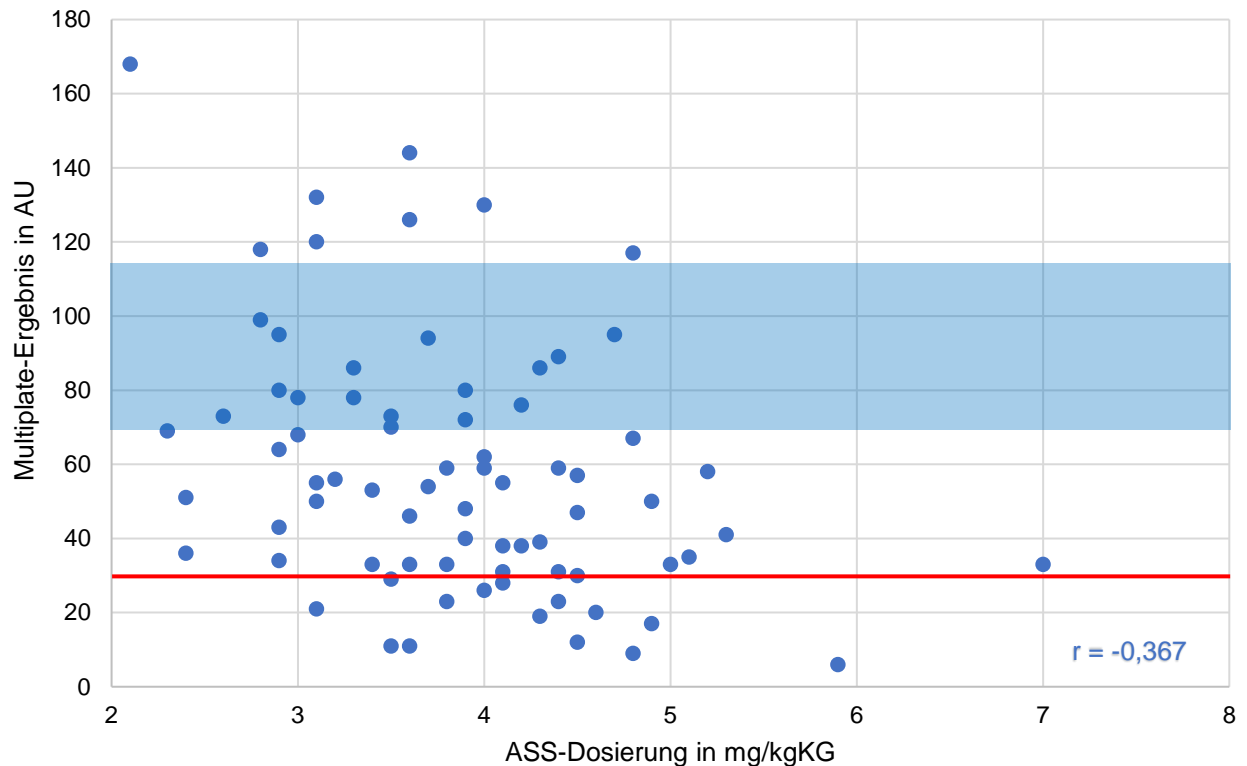


Abbildung 15. Streudiagramm der Korrelation zwischen Multiplate-Testergebnis (Arachidonsäure) und der verabreichten ASS – Dosierung. (n=76), Der blaue Balken stellt den Normbereich von 70-115 U bei Verwendung von Arachidonsäure ohne Therapie dar. Die rote Linie definiert die Grenze, unter der von einer suffizienten Therapie ausgegangen wird (<30 U). r= Korrelationskoeffizient nach Pearson.

In einer Korrelationsanalyse (Abb. 14,15) wurden die jeweiligen Testergebnisse der beiden Verfahren mit der bei dem Patienten verabreichten ASS-Dosierung analysiert, um den Zusammenhang der Variablen zu quantifizieren. Diese Analyse erfolgte unter der Annahme, dass ein Gütekriterium der Funktionstests ein Zusammenhang zur ASS-Dosierung darstellt. Für 73 Patienten, welche in der Kohorte durch die LTA-Analyse untersucht wurden, ergibt sich ein negativer Korrelationskoeffizient von $r = -0,109$ (nach Spearman) mit einer zweiseitigen Signifikanz von $p = 0,359$. Dies entspricht einer schwachen Effektstärke nach Cohen (65). Bei 76 Patienten mit einer Multiplate-Analyse zeigte sich ebenfalls ein negativer Korrelationskoeffizient $r = -0,366$ mit einer zweiseitigen Signifikanz von $p = 0,01$. Dies entspricht einer mittleren Effektstärke. Negative Werte sind zu erwarten, da das Testergebnis durch die steigende Dosierung kleiner wird. Auffällig ist die Werteverteilung in Abbildung 15: Viele Patienten liegen bei der Multiplate-Analyse trotz ASS-Medikation im Normbereich dessen, was man bei einer Testung ohne

Medikation erwarten würde, oder sie liegen sogar darüber. Die Werte im therapeutischen Bereich von 3-5 mg/kgKG sind gleichmäßig verteilt. Bei der LTA-Analyse ist die Verteilung deutlich einheitlicher und bleibt im Bereich von unter 20% für eine suffiziente Therapie. Allerdings gibt es hier vereinzelt „Ausreißer“.

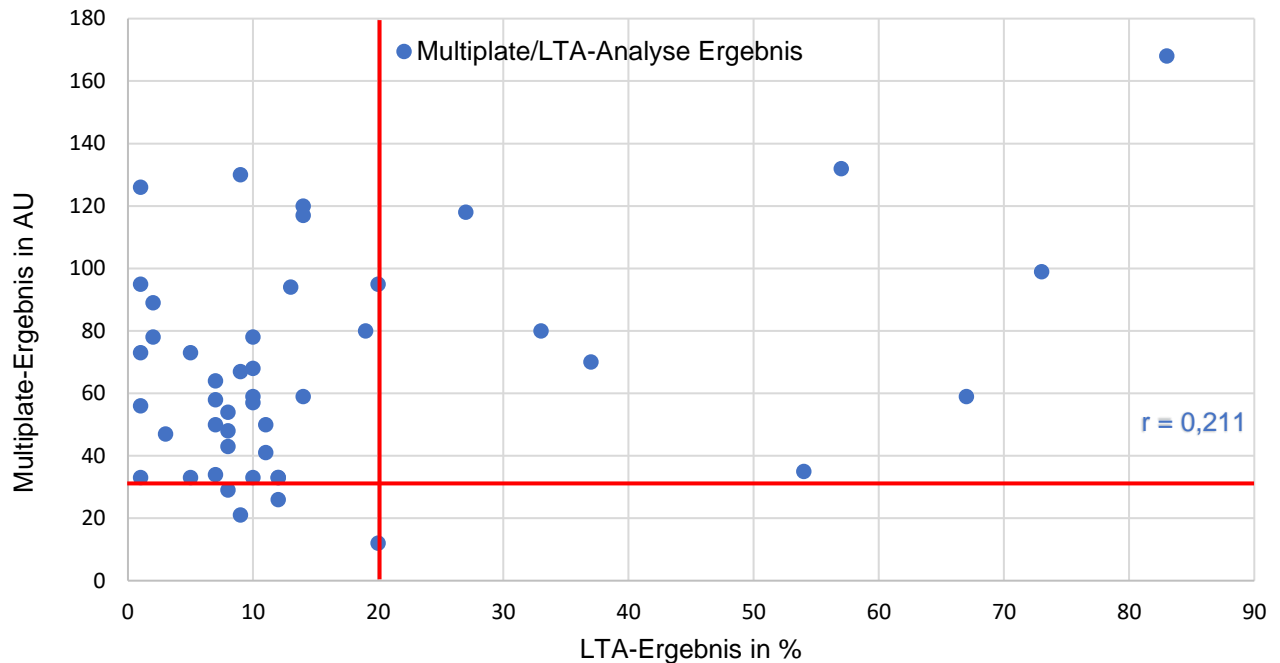


Abbildung 16. Streudiagramm der Korrelation zwischen Multiplate-Testergebnis und LTA-Testergebnis. Jeweils im Arachidonsäure-Test, Darstellung der Patienten, bei denen beide Tests angewendet wurden (n=46). Die roten Linien zeigen die jeweilige Grenze des Verfahrens für eine suffiziente Therapie an (LTA <20% und Multiplate <30 U).

Neben der Korrelation der beiden Testverfahren zur verabreichten ASS-Dosis wurden die beiden Verfahren auch untereinander auf eine Korrelation untersucht. Dabei ergab sich ein positiver Korrelationskoeffizient von $r = 0,211$ (nach Spearman) mit einer zweiseitigen Signifikanz von $p = 0,160$ bei 46 Patienten. Dies entspricht einer schwachen Effektstärke. Um das Maß der Übereinstimmung beider Verfahren zu verdeutlichen, wurde ebenfalls Cohens Kappa bestimmt (63). Dabei liegt die Interrater-Reliabilität bei den 46 Patienten, bei denen beide Tests durchgeführt wurden, im Hinblick auf das Anzeigen einer suffizienten Therapie bei $k = 0,039$ ($p=0,039$). Dieser Wert wird nach Landis und Koch als sehr schwache Konkordanz definiert (64). Anhand des Streudiagramms (Abbildung 16) ist kein linearer oder quadratischer Zusammenhang zu erkennen. Es treten gehäuft

niedrige LTA-Ergebnisse auf, die für eine suffiziente Hemmung sprechen, wohingegen die Bandbreite auf der y-Achse weit ist und die Multiplate-Analyse Werte in allen Bereichen ausgibt. Jene Patienten, die in beiden Verfahren ein hohes Ergebnis zeigten, weisen entweder eine ASS-Dosierung am unteren Ende der empfohlenen Dosis von 3 mg/kgKG auf oder zeigen zu einem anderen Testzeitpunkt ein suffizientes Ergebnis.

3.3 Verfahrensanalyse

In der Verfahrensanalyse wurde der Frage nachgegangen, inwieweit ein konsequentes Therapiemonitoring im klinischen Alltag Anwendung fand. Dabei wurden Therapie-Änderungen und Testwiederholungen ausgewertet. Ebenso wurden Abweichungen von der aus der Verfahrensanalyse hervorgehenden Handlungsempfehlung ausgewertet.

3.3.1 Änderung der Therapie als Konsequenz auf das Testergebnis

Tabelle 6. Therapieanpassung vor und nach Thrombozytenfunktionsdiagnostik

	Vor Testung	Nach Testung
	Mittelwert [SD; KI]	Mittelwert [SD; KI]
Dosis-Anpassung in mg/kgKG		
Erhöhung (n=17)	3.1 [0.53; 2,8-3,4]	4.3 [0.68; 3.9-4,6]
Keine Änderung (n=82)	4.0 [0.81; 3,8-4,1]	4.0 [0.81; 3.8-4,1]
Senkung (n=2)	4.0 [1.06; 5,6-13,5]	2.9 [0.35; -0.33-6]
Anzahl		
ASS-Therapie	103	101
Doppelte Plättchen Hemmung	3	2
Umstellung von ASS auf Clopidogrel*		2

Anmerkung. n = Stichprobengröße, SD = Standardabweichung, KI = 95% Konfidenzintervall, IQA = Interquartilsabstand, Doppelte Plättchenhemmung mittels ASS und Clopidogrel, ***= p<0,001 mit KI [-1,28-0,47], *Umstellung der Therapie auf Grund der Diagnosestellung eines ASS-Non-Response bei zwei Patienten

In Tabelle 6 ist der Verlauf der ASS-Therapie vor und nach der Funktionstestung aufgeführt. Hierbei betrug die Dosierung des Medikamentes vor der Testung im Mittel der gesamten Kohorte 3.8 mg/kg KG. Nach der Thrombozytenfunktionsdiagnostik steigerte

sich die Dosis auf 4 mg pro kg Körpergewicht bei allen Patienten. Bei den zwei diagnostizierten ASS-Non-Respondern handelt es sich nicht um jene Patienten, die vor der Testung eine doppelte Hemmung erhalten hatten. Bei 17 Patienten wurde die ASS-Dosis nach der Testung erhöht, dabei lag die mittlere Dosis vor der Testung signifikant ($p < 0.001$) unter der Dosierung der 82 Patienten, bei denen keine Dosis-Anpassung vorgenommen worden war. Von den 17 Patienten mit Dosis-Erhöhung zeigten zuvor sieben eine suffiziente Hemmung in einem Funktionstest. Nach der Anpassung ist der Unterschied nicht mehr signifikant. Bei 16 Patienten war die initiale ASS-Dosierung unter der empfohlenen Mindestmenge von 3 mg/kgKG, fünf dieser Patienten gehörten zu der Gruppe, bei denen die Dosierung nach der Testung angehoben wurde.

3.3.2 Abweichung von der Handlungsempfehlung

Nachdem im letzten Abschnitt die Dosis-Änderung betrachtet wurde, wird hier der Umgang mit den Funktionstestungen allgemein untersucht. Dabei liegt der Fokus auf Vorgängen, die von der aus dieser Studie hervorgehenden Handlungsempfehlung abweichen. Um an dieser Stelle den Empfehlungen vorzugreifen, sollte die ASS-Dosierung nach initial suffizientem Testergebnis nur erhöht werden, falls diese unter dem empfohlenen Dosis-Bereich liegt. Eine erneute Testung ist nach suffizientem Ergebnis nicht notwendig. Im Falle eines insuffizienten Ergebnisses, sollte mindestens die Dosierung erhöht oder zusätzlich eine erneute Testung durchgeführt werden. Senkt man die Dosierung oder stellt auf Grund eines vermuteten ASS-Non-Response die Medikation um, sollte dies in jedem Fall erneut getestet werden.

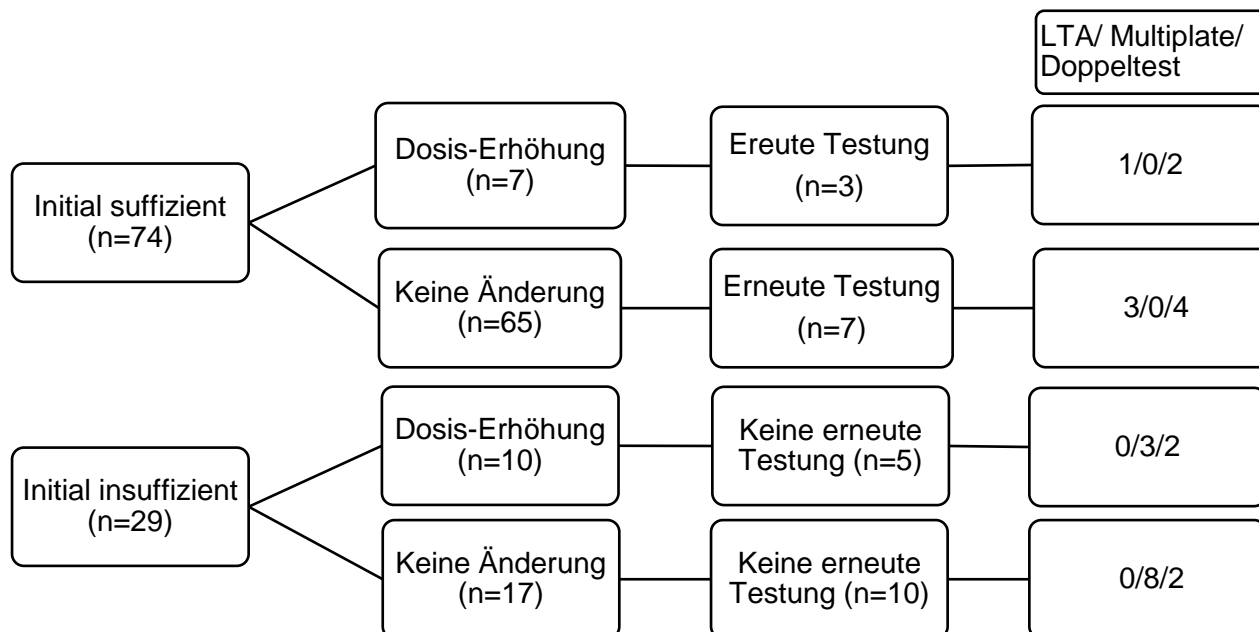


Abbildung 17. Darstellung des von der Handlungsempfehlung abweichenden Vorgehens(n=23). Die Patienten mit Dosis-Senkung /-Umstellung sind nicht aufgeführt, da hier keine Abweichung vorlag (n=4). In der rechten Spalte sind die jeweils zur Anwendung kommenden Verfahren aufgeführt. Bei der Doppeltestung wurde ein suffizientes Testergebnis als insgesamt suffizient gewertet.

Von 74 Patienten mit initial suffizientem Ergebnis, wurde in zehn Fällen erneut getestet. Von den 29 Patienten mit insuffizienten Testergebnis wurden 15 nicht erneut getestet, davon waren zehn zusätzlich ohne Therapie-Anpassung. Zwei der Patienten zeigten ein Ergebnis knapp an der Grenze zur suffizienten Hemmung (ein LTA-Test bei einer Doppeltestung und ein Multiplate-Test). In diesen Fällen ist es der Handlungsempfehlung folgend zulässig, nur eine Dosis-Erhöhung vorzunehmen, ohne erneut zu testen. Somit liegt in 23 Fällen eine Abweichung von der Studien-Empfehlung vor (22,3%). Es fällt auf, dass bei der LTA-Analyse in vier Fällen ein abweichendes Vorgehen vorliegt (14,8%). Dabei wurde trotz suffizientem Ergebnis stets ein erneuter Test durchgeführt. Bei der Multiplate-Analyse war die Rate mit 30% höher. In allen zehn Fällen wurde ein im Test insuffizienter Patient nicht überprüft, eine Dosis-Erhöhung erfolgte in drei Fällen. Bei den 46 Patienten mit Doppeltestung zeigte sich in neun Fällen ein abweichendes Vorgehen (19,5%).

3.3.3 Vergleich von einfach und zweifach getesteten Patienten

Tabelle 7. Vergleich der Patienten mit einer Testung zu Patienten mit Testwiederholung

	Einfache Testung (n=77)		Testwiederholung (n=26)		p-Wert [KI95%]
	n	Anteil	n	Anteil	
Suffizienz im ersten Test	62	80.5 %	12	46.2 %	0.002
Suffizienz im zweiten Test			17	65.4 %	
Dosis Erhöhung nach 1. Test	9	11.7 %	8	30.8 %	0.001
	Mittelwert [SD; KI]	Median [IQA]	Mittelwert [SD; KI]	Median [IQA]	
ASS-Dosis vor Testung	3.9 [0.81; 3.7-4.1]		3.5 [0.83; 3.1-3.8]		0.012 [-0.84,-0,11]
ASS-Dosis nach Anpassung	4.1 [0.81; 3.9-4.2]		3.8 [0.73; 3.5-4.1]		0.164 [-0.63,0,09]

Anmerkung. Die Bezeichnung Testwiederholung bezieht sich darauf, ob nach der initialen Testung eine erneute Testung erfolgt ist. n = Stichprobengröße, SD = Standardabweichung, KI = 95% Konfidenzintervall, IQA = Interquartilsabstand

In Tabelle 7 ist die Gruppe der Patienten, bei denen eine erneute Testung vorgenommen wurde, vergleichend gegenüber den Patienten dargestellt, die nur einmal getestet wurden. Es zeigt sich eine signifikant höhere Suffizienzrate bei den Patienten, die nur einmal getestet wurden. Durch erneute Testung und Erhöhung der ASS-Dosis wurde die Suffizienzrate von 12 auf 17 Patienten um 41,7% gesteigert. Allerdings wurde bei erneuter Testung ein Patient insuffizient und ein anderer war nicht auswertbar. Weiter zeigt sich, dass bei der Gruppe der zweifach getesteten Patienten signifikant häufiger eine Dosiserhöhung vorgenommen wurde als in der Vergleichsgruppe. Ähnliches zeigt sich bei dem Vergleich der mittleren ASS-Dosis zwischen den Gruppen. Initial war die Dosierung der zweimal getesteten Patienten signifikant geringer als bei der anderen Gruppe.

3.3.4 Verfahrensanalyse mit Aufschlüsselung der verwendeten Testverfahren

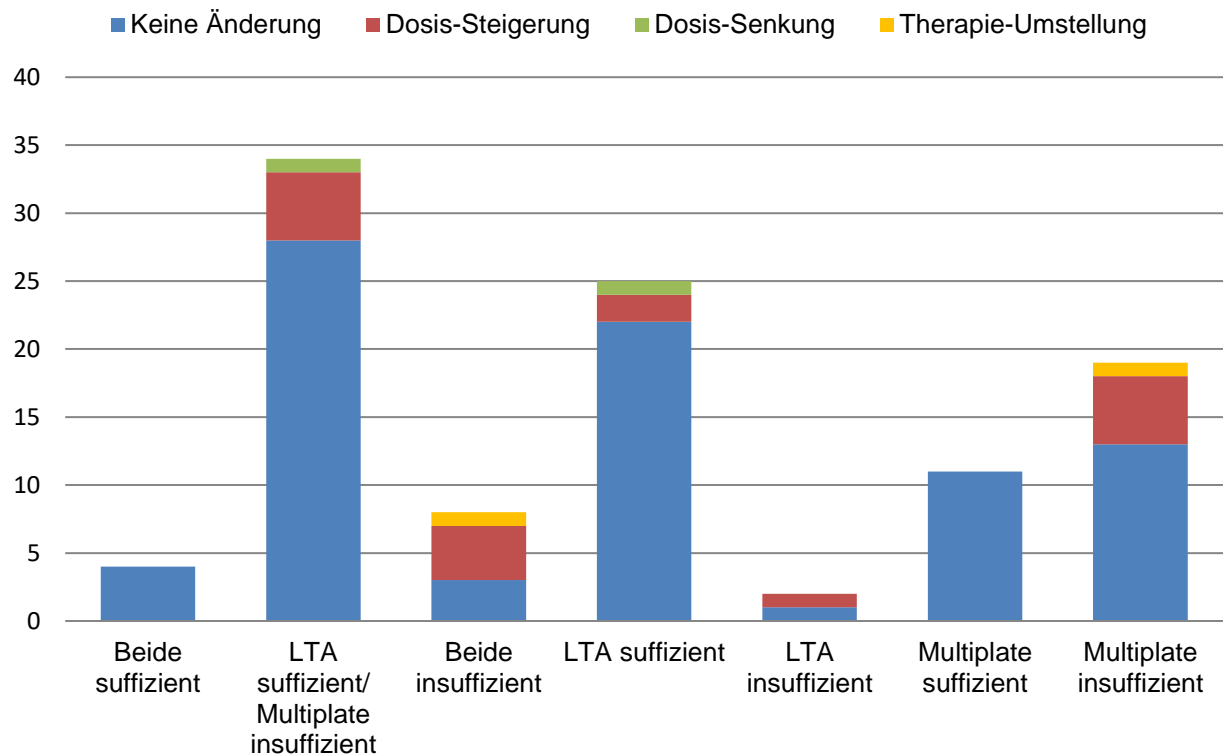


Abbildung 18. Ergebnisse der Verfahrensanalyse im Überblick. Säule 1-3: Durchgeführte Doppeltestungen (n=46), Säule 4-5: Durchgeführte LTA-Analysen (n=27), Säulen 6-7: Durchgeführte Multiplate-Analysen (n=30), LTA= Lichttransmissionsaggregometrie, y-Achse = Anzahl der Patienten

In Abbildung 18 sind die durchgeführten Funktionstests mit dem jeweilig folgenden Vorgehen dargestellt. Von den 103 getesteten Patienten weisen 73 (71,8%) eine suffiziente Plättchenhemmung durch ASS auf. Wohingegen bei 29 (28,1%) eine insuffiziente Hemmung besteht. Es ist zu erkennen, dass trotz suffizienter Hemmung in der LTA-Testung bei sieben Patienten (6,7%) eine Erhöhung der Dosis erfolgte (Säule 2 und 4). Darüber hinaus zeigt sich, dass bei 17 Patienten ohne suffizientes Ergebnis (Säulen 3,5 und 7) keine Dosis-Steigerung erfolgte. Vor allem fallen die 13 Patienten auf, bei denen trotz insuffizientem Multiplate-Ergebnis keine Dosis-Steigerung vorgenommen wurde (Säule 7). Die mittlere ASS-Dosierung dieser Patienten liegt bei 3,9 mg/kgKG. Schließlich zeigt die Abbildung zwei Patienten, bei denen auf Grund sehr starker Hemmung die ASS-Dosis gesenkt wurde, sowie beide ASS-Non-Responder, bei denen auf Clopidogrel umgestellt wurde. Alle vier Patienten wurden anschließend erneut auf ihre Thrombozytenfunktion getestet.

3.3.5 Verfahrensentwicklung im Studienzeitraum

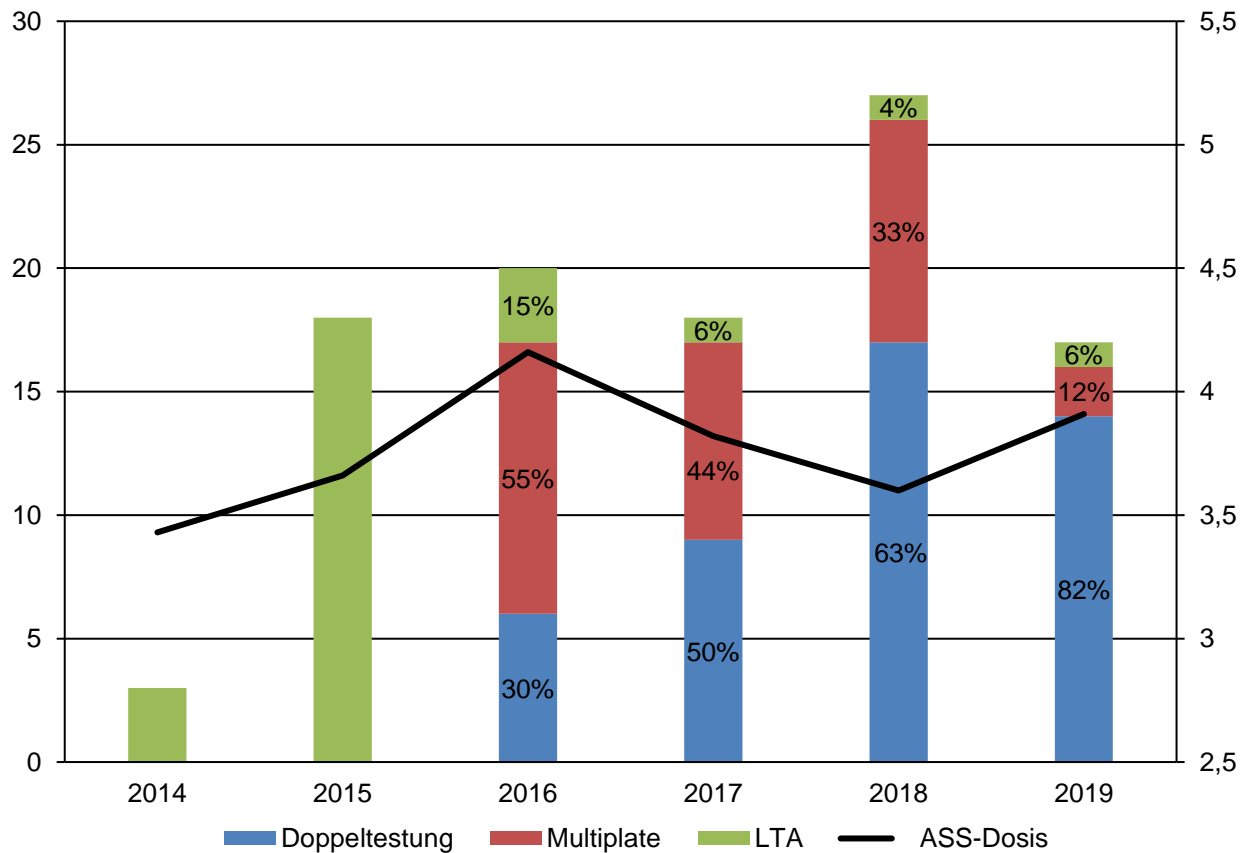


Abbildung 19. Darstellung der angewandten Testverfahren im Studienzeitraum mit Angabe der durchschnittlichen ASS-Dosierung in mg/kgKG. Das Jahr 2019 repräsentiert den Studienzeitraum bis Juli. Die linke Skala gibt die Anzahl der Testungen wieder. Die rechte Skala gibt die durchschnittliche ASS-Dosierung der jeweiligen Jahre in mg/kgKG an. Die Balken enthalten den prozentualen Anteil des Verfahrens.

In Abbildung 19 sind die einzelnen zur Anwendung kommenden Testverfahren über den gesamten Testzeitraum dargestellt. Ab 2016 zeigt sich eine Zunahme der Patienten, bei denen beide Tests durchgeführt wurden, bei gleichzeitiger Abnahme der Einzeltestung. Aus der Abbildung geht ebenfalls hervor, dass die mittlere ASS-Dosierung gestiegen ist.

3.4 Handlungsempfehlung

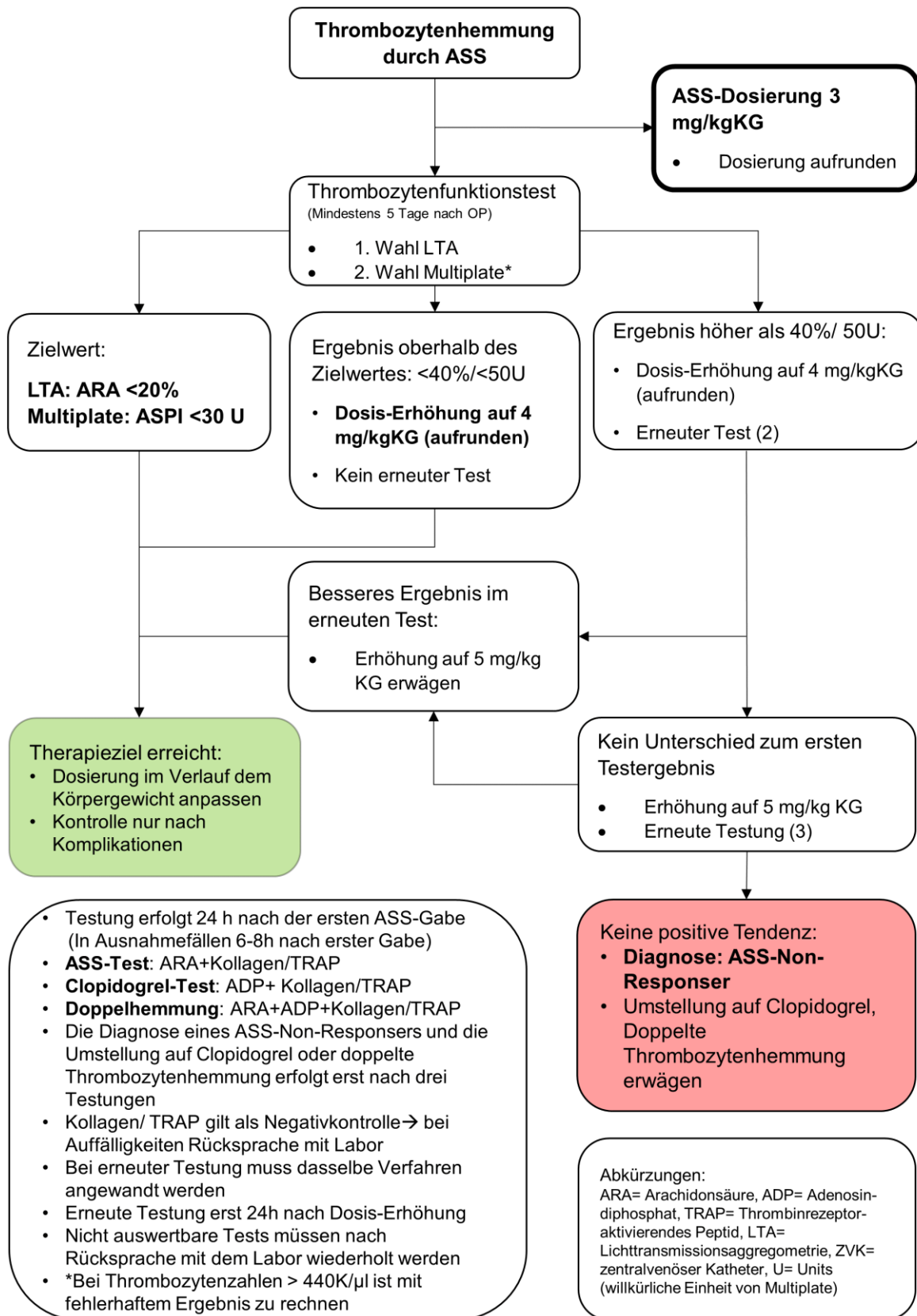


Abbildung 20. Handlungsempfehlung für das ASS-Therapiemonitoring bei Patienten mit AHF-bedingtem aortopulmonalem Shunt

3.5 Patienten ohne suffizientes Testergebnis - ASS-Non-Responder

In der Studienkohorte gab es 17 Patienten (16,5%), die nie ein suffizientes Testergebnis aufgewiesen haben. Fünf dieser Patienten lagen im Bereich zwischen 30 und 40 U nah an einer suffizienten Hemmung. Bei sieben der 17 Patienten lag die ASS-Dosierung im Bereich des Minimums der empfohlenen Dosis von 3 mg/kgKG oder darunter. Weiter wurden sechs der 17 Patienten nur einmal getestet. Unter den 17 Patienten ohne suffizienten Test befanden sich beide Patienten, welche bereits in der Klinik als ASS-Non-Responder eingestuft worden waren. Bei Anwendung der Handlungsempfehlung konnte einer dieser Patienten retrospektiv bestätigt werden. Bei dem anderen Patienten wurde eine Testung durchgeführt, und die ASS-Dosierung lag bei 2,1 mg/kgKG. Dieser Patient wurde im Nachhinein nicht bestätigt. Es zeigte sich jedoch bei einem weiteren Patienten trotz adäquater Dosierung von 4,3 mg/kgKG und drei unabhängigen Testungen keine ausreichende Hemmung. Die Quote von ASS-Non-Respondern liegt somit bei 2/103 Patienten (1,94%). Bei den beiden diagnostizierten Non-Respondern trat kein Shuntverschluss auf. Von den 17 Patienten ohne suffizientes Ergebnis gab es in der Rückschau zwei Shuntverschlüsse. Diese ereigneten sich einmal am OP-Tag und einmal am ersten postoperativen Tag. Beide Patienten standen zu dem Zeitpunkt unter Heparin-Therapie.

3.6 Explorative Datenanalyse

3.6.1 Unterschiede im Testergebnis nach früher postoperativer Testung

Um der Frage nachzugehen, ob die zeitliche Nähe der Thrombozytenfunktionstestung zur Shunt-Operation einen Einfluss auf das Ergebnis der Testung hat, wird die Studienkohorte in zwei Gruppen eingeteilt. Die erste Gruppe umfasst 62 Patienten, bei denen die Funktionstestung innerhalb der ersten 14 Tage nach Operation erfolgte. Die zweite Gruppe mit 41 Patienten repräsentiert einen späteren Testzeitpunkt.

Im Median wurden Patienten am 13. Tag nach der Operation getestet. 20 Patienten wurden in der ersten Woche nach Operation getestet, sechs innerhalb der ersten fünf Tage. Der früheste Zeitpunkt war der dritte Tag nach Operation. Im längsten Fall betrug der Abstand 61 Tage. Weder bei der LTA-Analyse noch bei der Multiplate-Analyse ergaben sich signifikante Unterschiede in den jeweiligen Testergebnissen. Es zeigt sich, dass Patienten, die früher getestet wurden, zum Zeitpunkt der Operation älter waren (46 Tage gegenüber 22 Tage, $p = 0,024$) und kürzer auf der Intensivstation blieben (8 Tage gegenüber 22 Tage, $p = 0,001$). Gleichzeitig wurden die Patienten aus der spät getesteten Gruppe häufiger getestet (zwei Testzeitpunkte gegenüber einem, $p = 0,002$) und wiesen eine höhere maximale Heparinlauftrate auf (728 IU/kgKG/d gegenüber 622 IU/kgKG/d, $p = 0,001$, KI= [-158-(-53)]).

In einer zweiten Analyse werden die Patienten mit dem Grenzwert von sieben Tagen zwischen Operation und Funktionstestung aufgeteilt. Dabei wurden 20 Patienten in der ersten Woche getestet, 83 zu einem späteren Zeitpunkt. Es zeigt sich ein ähnliches Bild. Die maximale Heparinlauftrate war bei den früh getesteten Patienten geringer (606 IU/kgKG/d gegenüber 679 IU/kgKG/d, $p = 0,039$, KI=[-142-(-4)]). Ebenso waren früh getestete Patienten zum Operationszeitpunkt älter (92 Tage gegenüber 31 Tage, $p = 0,04$) und lagen kürzer auf der Intensivstation (5 Tage gegenüber 18 Tage, $p = 0,001$). Darüber hinaus wiesen sie ein höheres Körpergewicht zum Testzeitpunkt auf (4,6 kg gegenüber 3,9 kg, $p = 0,025$).

3.6.2 Einfluss des Alters auf die Funktionstestung unter ASS-Therapie

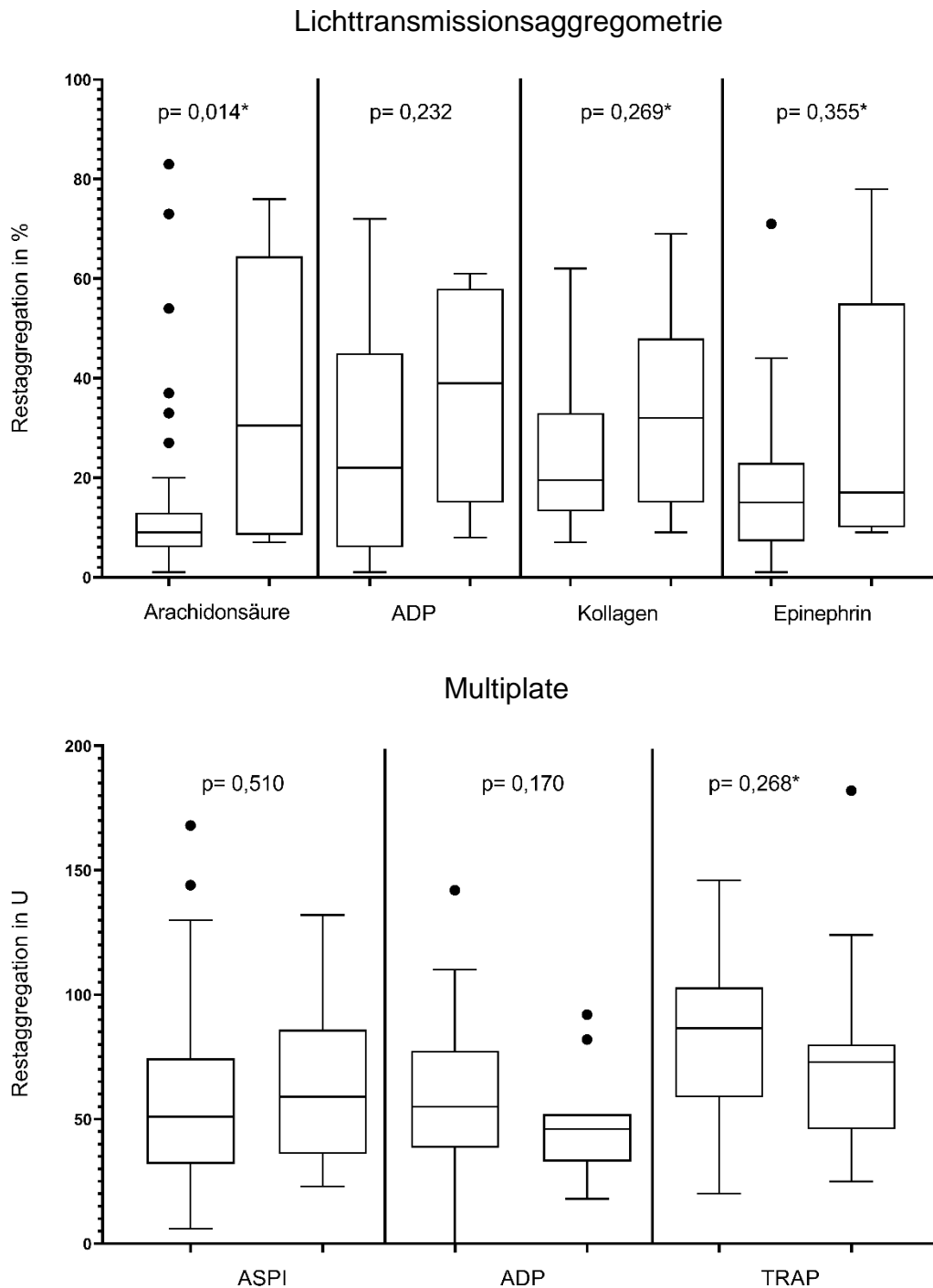


Abbildung 21. Einteilung der Funktionstestergebnisse nach Alter der Patienten. Unter einem Jahr (jeweils linker Graph) $n=65$, über einem Jahr (rechter Graph) bei LTA $n=8$ und Multiplate $n=11$, ASPI= Arachidonsäure, ADP= Adenosindiphosphat, TRAP= Thrombinrezeptor-aktivierendes Peptid. p-Wert*= MWU-Test, ansonsten t-Test

Im Hinblick auf den Einfluss des Alters auf die Funktionstestungen wurden die Patienten in Altersgruppen eingeteilt. Dabei waren 90 Patienten zum Testzeitpunkt unter einem Jahr alt. Die verbliebenen 13 Patienten waren über ein Jahr alt. Es ergeben sich Unterschiede in der Anzahl der Patienten bei den verschiedenen Reagenzien, da nicht bei jedem Patienten das entsprechende Verfahren angewendet wurde. Es zeigt sich, dass bei der LTA-Analyse die Patienten unter einem Jahr ein signifikant geringeres Testergebnis im Arachidonsäure-Test aufweisen als die ältere Vergleichsgruppe ($p=0,014$). Außerdem fällt eine größere Streuung der Testergebnisse bei der Multiplate-Analyse im Arachidonsäure-Test bei den unter Einjährigen auf im Vergleich zur LTA-Gruppe. Bei den übrigen LTA- sowie Multiplate-Reagenzien ist kein signifikanter Unterschied festzustellen. Ein Vergleich zwischen Neonaten (bis 30 Tage Lebensalter) und Säuglingen (bis ein Jahr) ergibt keinen Unterschied zwischen den Altersgruppen in der Funktion der Thrombozyten.

3.6.3 Zusammenhang zwischen Multiplate-Testergebnis und Thrombozytenzahl

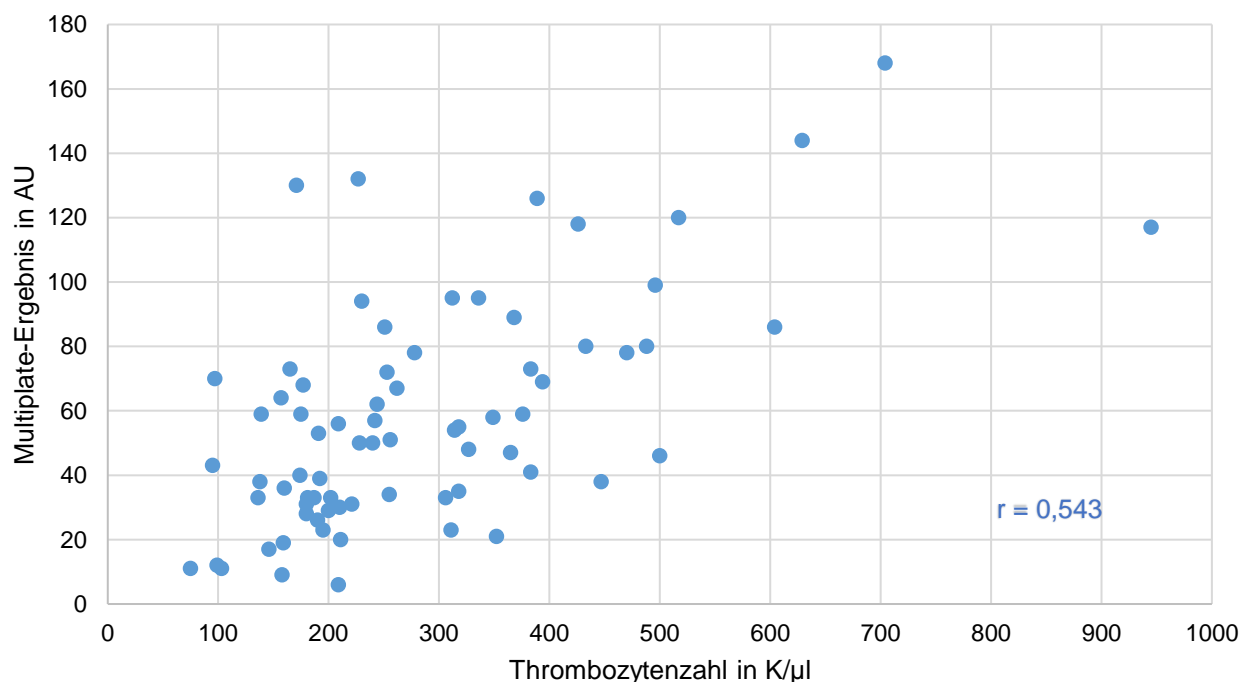


Abbildung 22. Streudiagramm der Korrelation zwischen Multiplate-Testergebnis (Arachidonsäure) und der jeweiligen Thrombozyten-Zahl. r = Korrelationskoeffizient. Die sehr hohen Thrombozytenwerte wurden erneut auf Ihre Richtigkeit hin überprüft. (n=76)

In einer Korrelationsanalyse nach Spearman ergibt sich ein signifikanter Zusammenhang ($p=0,001$) zwischen dem Multiplate-Testergebnis (Arachidonsäure) und der Thrombozytenzahl, welche zeitgleich mit der Thrombozytenfunktionsdiagnostik bestimmt wurde. Mit einem Korrelationskoeffizienten von $r=0,543$ besteht ein starker linearer Zusammenhang. Mit höherer Thrombozytenzahl steigt das Multiplate-Ergebnis und wird damit schlechter. Nach Ausschluss jener Patienten mit Thrombozytenzahlen außerhalb des klinikinternen Normbereiches von 140-440 $k/\mu l$ schwächt sich die Korrelation auf $r=0,406$ ($p=0,002$) ab. Somit besteht im Normbereich ein mittlerer linearer Zusammenhang. Gleichzeitig erhöht sich die Suffizienzrate des Multiplate-Verfahrens der verbliebenen 56 Patienten im Normbereich unmerklich von 19,8% auf 21,4%. Auch bei den anderen Multiplate Reagenzien ergibt sich ein starker linearer Zusammenhang zur Thrombozytenzahl. TRAPtest: $r=0,579$ ($p=0,001$), ADPtest: $r=0,598$ ($p=0,001$). Im Normbereich schwächt sich der Zusammenhang ebenso ab, TRAPtest: $r=0,510$ ($p=0,001$), ADPtest: $r=0,496$ ($p=0,001$).

Im Gegensatz dazu besteht in der LTA-Analyse ein schwacher Zusammenhang zwischen Arachidonsäure-Ergebnis und Thrombozytenzahl ($r=0,229$; $p=0,052$). Bei den anderen Reagenzien der LTA-Analyse besteht kein Zusammenhang zur Thrombozytenzahl. ADP: $r= -0,006$ ($p=0,964$), Kollagen: $r= -0,018$ ($p=0,914$), Epinephrin: $r=0,228$ ($p=0,082$). Schließt man die Werte außerhalb des Normbereiches der Thrombozyten aus, fällt der Korrelationskoeffizient von LTA-Arachidonsäure auf $r=0,051$ ($p=0,721$). Bei den acht Patienten, die unter dem Normbereich der Thrombozyten liegen, ergibt sich für keines der beiden Verfahren ein signifikanter Zusammenhang. Oberhalb des Normbereiches besteht bei den zehn betroffenen Patienten eine starke Korrelation in der Multiplate-Analyse. ASPItest: $r=0,794$ ($p=0,0069$); TRAPtest: $r=0,697$ ($p=0,025$), ADPtest: $r=0,479$ ($p=0,162$). Bei der LTA-Analyse besteht diese Korrelation nicht.

In der explorativen Datenanalyse werden verschiedene Einflussfaktoren auf die Thrombozytenfunktionstestungen untersucht. Ins besonders scheint die Multiplate-Analyse von der Thrombozytenzahl abhängig zu sein. Der Abstand zur Operation hat in den vorliegenden Daten keinen Einfluss auf das jeweilige Testergebnis. Ebenso ergibt sich kein Unterschied zwischen Neonaten und Säuglingen.

4 Diskussion

4.1 Diskussion der Ergebnisse

In dieser retrospektiven Studie wurden 103 Patienten der vergangenen acht Jahre aus der Klinik für Angeborene Herzfehler -Kinderkardiologie am DHZB untersucht, mit dem Ziel, die diagnostische Überwachung der Thrombozytenaggregationshemmung bei Kindern mit operativ eingebrachtem aortopulmonalen Shunt zu verbessern. Es zeigt sich, dass die LTA-Analyse nicht nur besser zur Therapieüberwachung bei der vorliegenden Patientengruppe geeignet ist, sondern auch, dass das Multiplate-Verfahren unzuverlässig zu sein scheint. Die Thrombozytenzahl hat einen deutlichen Einfluss auf das Multiplate-Verfahren. Durch die Verfahrensanalyse von 315 durchgeführten Thrombozytenfunktionstests konnte Kenntnis darüber gewonnen werden, an welchen Stellen im klinischen Alltag potenziell Fehler entstehen können und welche Patienten auf Grund ihrer Testergebnisse als ASS-Non-Responder eingestuft werden müssen. Als Konsequenz daraus wurde eine Handlungsempfehlung erarbeitet, die versucht, Abläufe zu standardisieren und damit die Therapie der Patienten zu vereinheitlichen. Die vorliegende Studie ist der erste retrospektive Vergleich der beiden Testverfahren LTA-Analyse und Multiplate-Analyse im Hinblick auf die Überwachung der ASS-Therapie bei Kindern mit Shunt-abhängigem angeborenem Herzfehler. Besonders hervorzuheben ist, dass Ergebnisse von 46 Patienten mit simultaner LTA-Analyse und Multiplate-Analyse analysiert wurden.

4.1.1 Patientenkohorte

Mit 103 Patienten und 239 ausgewerteten Testungen basiert die Studie für ein monozentrisches Studiendesign auf einer großen Anzahl von Daten, die eine fundierte Analyse der Fragestellungen ermöglichen. Das Verteilungsmuster der zu Grunde liegenden AHF-Phänotypen (Abbildung 7) entspricht weitestgehend ihrer Prävalenz in Deutschland (1). In einer internationalen, multizentrischen Studie von Li. et al. aus dem Jahr 2007, die sich mit dem klinischen Outcome von Kindern nach Shunt-Operation befasst, ist ein ähnliches Verteilungsmuster der AHFs zu sehen (21). Im Hinblick auf das Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Operation und folglich auch auf das Alter bei Funktionstestung, ergibt sich folgendes Bild: Die Hälfte der Patienten wurde in der Neonatalperiode operiert, weitere 40% im Verlauf des ersten Lebensjahres und 13

Patienten waren älter als ein Jahr. Gerade das Alter bei Operation, spiegelt den Umstand wider, dass nicht alle Patienten zur Geburt und postnatalen Versorgung am Perinatalzentrum der Charité angebunden waren. Demnach werden Patienten deutlich später operiert, die nach initialem Eingriff im Ausland an das DHZB kommen. Ebenfalls können Patienten primär mit einem Pulmonalarterienbanding versorgt werden, was die operative Shuntanlage zeitlich nach hinten verschiebt. Folglich ist die Gruppe der Patienten repräsentativ für Kinder, die auf Grund eines AHFs einen aortopulmonalen Shunt benötigen. Im Hinblick auf das Vorhaben, zwei Thrombozytenfunktionstests zu vergleichen, kann diese Inhomogenität als problematisch erachtet werden. Berücksichtigt man das Alter bei der thematisierten Patientengruppe und schließt nur Patienten in der Neonatalperiode ein, reduziert sich die Anzahl der Patienten soweit, dass auch dies als negativ für den Testvergleich bewertet werden kann. Aus diesem Grund wurde das Alter als Einflussfaktor auf die Funktionstestung untersucht. Das Routinelabor (Tabelle 3), welches zur Funktionstestung bestimmt wurde, entspricht den zu erwartenden Werten und deckt sich mit Angaben von Romlin et al., welche in ihrer Arbeit ebenfalls Patienten mit aortopulmonalen Shunt unter ASS-Therapie untersuchten (50).

4.1.2 Vergleich der Testverfahren

Da es bisher keine publizierten Studien gibt, die die diagnostischen Verfahren LTA-Analyse und Multiplate-Analyse im Hinblick auf das ASS-Monitoring bei Kindern vergleichen, kann nur bedingt Bezug zu bisher publizierten Daten hergestellt werden. Bisher befassten sich Studienarbeiten mit dem Vergleich beider Methoden im Hinblick auf die Erkennung von leichten Blutungsneigungen oder der Therapieüberwachung von ASS und Clopidogrel bei Erwachsenen (47, 48, 67, 68). Im pädiatrischen Bereich finden sich zwei Studien, die einen Verfahrensvergleich im Hinblick auf die ASS-Therapie durchführen. Die Indikationen für die Therapie sind Schlaganfall, Herzkatheteruntersuchung u.a.. Dabei wird die LTA-Analyse als Goldstandard mit anderen Methoden (z.B. PFA-100) verglichen (55, 57). Für die hier untersuchten Testverfahren zur Überwachung der ASS-Therapie zur Verschluss-Prophylaxe finden sich keine methodenvergleichenden Studien.

Für diese Fragestellung konnten retrospektiv 103 Patienten mit insgesamt 149 Testungen ausgewertet werden. Bei dem LTA-Verfahren wird in 86,3% der Fälle eine suffiziente

Therapie angezeigt, bei der Multiplate-Analyse ist dies in 19,8% der Fälle. Dabei standen alle Patienten in der Studie unter ASS-Therapie. Besonders hervorzuheben sind die 46 Patienten, bei denen beide Verfahren gleichzeitig angewendet wurden. In 26,1% der Fälle stimmen die Verfahren in ihrer Aussage überein. In den restlichen Fällen (n=34) zeigt sich in der LTA-Analyse eine suffiziente Hemmung an und in der Multiplate-Analyse nicht. Nie war dies umgekehrt der Fall (Abb.8-11) Wie aus der Einleitung hervorgeht, herrscht an vielen Stellen in diesem Themengebiet zunächst Uneinigkeit. Grundlegend herrscht aber Konsens darin, dass im postoperativen Verlauf nach einer Shunt-Operation eine ASS-Therapie das Risiko für einen Shunt-Verschluss senkt. Dies lässt sich in einer multizentrischen Vergleichsstudie von Li et al. (21) ablesen. Folglich ist die Therapie auch Teil der Leitlinie für HLHS-Patienten der Deutschen Gesellschaft für Pädiatrische Kardiologie geworden (9). Es ist davon auszugehen, dass ASS bei der untersuchten Patientengruppe eine Wirkung zeigt. Es ist auch bekannt, dass bei pädiatrischen Patienten teilweise kein suffizientes Ergebnis in einer Funktionstestung erzielt wird. Es werden ASS-Resistenzraten von 0-43% beschrieben. Die breite Varianz wird auf die unterschiedlichen Testverfahren und Definitionen einer ASS-Resistenz zurückgeführt (6). Gleichwohl gehen manche Autoren davon aus, dass diese Resistenzen durch eine Erhöhung der ASS-Dosis überwunden werden können und folglich auf initial zu geringe Dosierungen zurückzuführen sind (57).

Obwohl es schwierig ist zu definieren, wie viele der pädiatrischen Patienten wirklich keine oder keine ausreichende ASS-Wirkung zeigen, kann man aber unter den beschriebenen Umständen davon ausgehen, dass ASS bei den meisten Patienten eine ausreichende Wirkung zeigt. Daher erscheint das LTA-Ergebnis deutlich glaubwürdiger als das Ergebnis der Multiplate-Analyse. In der Gesamtanalyse von 292 durchgeführten Testungen unter ASS zeigt sich ein ähnliches Ergebnis. Hier liegt zwar eine deutlich größere Anzahl an Testungen zu Grunde, allerdings werden auch mehrere Tests pro Patienten betrachtet, was zu einer Verzerrung des Ergebnisses führt.

Die unterschiedlichen Ergebnisse der beiden Testverfahren können bedingt mit einer Arbeit von Ghaihi et al. verglichen werden (67). Die Autoren werten die beiden Testverfahren in ihrer Sensitivität, erwachsene Patienten mit leichter Blutungsneigung zu erkennen. Die LTA-Analyse zeigt dabei in 49% der Testungen ein abnormales Ergebnis,

was für eine leichte Blutungsneigung spricht, bei der Multiplate-Analyse ist dies in 15% der Testungen der Fall. Betrachtet man durch ASS gehemmte Thrombozyten als iatrogene Blutungsneigung, kann man dahingehend Parallelen zur Studie von Ghai et al. finden, dass die beiden Testverfahren nicht gut miteinander übereinstimmen und die LTA-Analyse das sensitivere Verfahren zu sein scheint.

Bei der Betrachtung aller Agonisten, die bei LTA- sowie Multiplate-Analyse angewendet werden (Abbildung 12), fällt auf, dass bei der LTA-Analyse der Arachidonsäure-Wert im Vergleich zu den anderen Reagenzien deutlich niedriger Werte aufweist. Diesen Effekt würde man unter einer ASS-Therapie vermuten. Der Grenzwert von 20% Restaggregation scheint dabei schlüssig, da die meisten Patienten (86,3%) in diesem Bereich liegen. Allgemein zeigt sich bei beiden Verfahren eine Streuung der Ergebnisse, bei LTA-Arachidonsäure ist dies am wenigsten der Fall. Dies lässt Rückschlüsse auf die individuelle ASS-Wirkung auf die Thrombozyten als auch die allgemeine Thrombozytenfunktion bei kinder-kardiologischen Patienten zu. Jennings et al. stellen ebenfalls eine hohe Variabilität in den Ergebnissen bei der LTA-Analyse fest. Die Autoren untersuchen kinder-kardiologische Patienten unter Clopidogrel mittels der LTA-Analyse (69). Dass der Arachidonsäure-Wert bei der LTA-Analyse im Vergleich zu den anderen Reagenzien abfällt, deckt sich mit der Beobachtung von Yee et al. (55). In jener Studie zeigten pädiatrische Patienten unter ASS-Therapie ebenfalls einen deutlich geringeren Wert in der Aggregation bei Arachidonsäure. Dagegen befand sich der ADP-Wert bei Yee et al. in einem höheren Bereich im Vergleich zu den vorliegenden Werten.

Bei der Multiplate-Analyse fallen bei den hier untersuchten Studienpatienten sowohl der Arachidonsäure- als auch der ADP-Wert ab (Abbildung 12). Dies suggeriert eine Thrombozytenaggregationshemmung mit ASS, was allerdings nicht der Fall war. Nur bei drei der 103 Patienten wurde Clopidogrel ergänzend zu ASS gegeben. Diese geringe Zahl beeinflusst nicht die Testergebnisse der 73 anderen Patienten. Gleichwohl zeigt sich, dass der Arachidonsäure-Wert nicht im therapeutischen Zielbereich liegt. Die Verteilung ist über einen Wertebereich von 6 bis 168 U gestreut (therapeutischer Bereich $\leq 30U$). Die jeweils verabreichte ASS-Dosierung zwischen den Gruppen unterscheidet sich nicht, damit scheint die Multiplate-Analyse bei der vorliegenden Kohorte überwiegend nicht in der Lage zu sein, eine ASS-Therapie verlässlich anzuzeigen.

Romlin et al. untersuchten ebenfalls Shunt-Patienten mit ASS-Therapie mit Hilfe der Multiplate-Analyse (50). Hier zeigte sich, dass kurze Zeit nach der ASS-Gabe 93% aller Patienten im therapeutischen Fenster lagen. Dieses Ergebnis steht im deutlichen Kontrast zur vorliegenden Studie. Dazu sind die TRAP und ADP-Werte im Vergleich zum Arachidonsäure-Wert bei Romlin et al. höher. Der Unterschied lässt sich möglicherweise dadurch erklären, dass die Studie von Romlin et al. 14 Patienten umfasst und damit auf deutlich weniger Patientendaten zurückgreift als die vorliegende Studie. In anderen Punkten sind die Studien besser vergleichbar. Es wurden ebenfalls Patienten nach Shunt-Operation unter ASS-Therapie untersucht. Die Dosierung lag dabei auch im Bereich von 3-5 mg/kgKG. Das mediane Alter von 12 Tagen, der Patienten bei Operation, ähnelt dem der hier untersuchten Patientengruppe. Mögliche Einflussfaktoren wie die Thrombozytenzahl wurden hingegen nicht untersucht. Darüber hinaus wurden für das Testverfahren andere Blutröhrchen verwendet (Lithium-Heparin), weshalb andere Grenzwerte für eine suffiziente Therapie ($\leq 60U$) Verwendung fanden. In beiden Studien ist der TRAP-Wert als Negativkontrolle höher als der Arachidonsäure-Wert, allerdings liegt dieser in der vorliegenden Studie nicht im Referenzbereich. Eine Studie, die beide Arten von Blutröhrchen in ihrer Aussagekraft vergleicht, könnte dieser Frage nachgehen.

Die Ergebnisse der Analyse in den Abbildungen 8-12 bilden die entscheidende Grundlage für die Bestätigung der Studienhypothese, dass die LTA-Analyse besser für das ASS-Therapiemonitoring bei Kindern mit Shunt-abhängigem vitium cordis geeignet ist. Darüber hinaus entsteht der Eindruck, dass die Multiplate-Analyse für die gleiche Aufgabe ungeeignet zu sein scheint. Diese Aussagen gelten zunächst eingeschränkt auf die hier untersuchten Patienten. Eine allgemeine Übertragung auf andere Patienten lässt das retrospektive, monozentrische Studiendesign nicht zu. Zu diesem Zweck sollte eine prospektive Vergleichsstudie angestrebt werden.

Für den Vergleich zweier laborchemischer Verfahren ist in erster Linie das jeweilige Testergebnis von Bedeutung. Allerdings spielt auch die Durchführbarkeit der Verfahren eine Rolle. Allgemein ist bekannt, dass die Multiplate-Analyse als POCT einfacher und schneller in der Durchführbarkeit ist, wohingegen die LTA-Analyse nur von geschultem Laborpersonal durchgeführt werden kann und weniger standardisierbar ist (58). Diese Voraussetzungen spiegeln sich in den Studienergebnissen wider (s. Kap.3.2.2). In der

Auswertung aller durchgeführten Testungen (Abbildung 13) liegt die Fehlerquote bei der LTA-Analyse in der Durchführung der Testung bei 9,4% und damit deutlich über der von Multiplate mit 2,8%. Bei LTA wurde in weiteren 3,6% der Fälle kein Arachidonsäure-Test durchgeführt, wobei keine andere Indikation für eine Testung angegeben wurde. Der Grund hierfür ist möglicherweise in der mangelnden Kommunikation zwischen Labor und Station zu finden. Hier zeigt sich ein Grund für die Erstellung einer Handlungsempfehlung. Die Einordnung dieser Ergebnisse zu bereits vorliegenden Studien fällt schwer, da in den relevanten Publikationen keine Angaben zu fehlerhaften Tests oder Ähnlichem gemacht werden. Angaben der Hersteller zu Fehlerquoten und Durchführbarkeit der Testverfahren gibt es ebenfalls nicht.

Weiter fielen in der Gesamtanalyse aller Testungen 17 Patienten auf, die in keiner ihrer Testungen eine suffiziente Hemmung zeigten. Bei dieser Gruppe fiel eine signifikant geringere ASS-Dosierung als bei den übrigen Patienten auf (3,4 zu 3,9 mg/kgKG). Darüber hinaus lagen diese Patienten signifikant kürzer im Krankenhaus. Dies lässt zunächst vermuten, dass Patienten, die durch einen weniger komplizierten Verlauf, kürzer im Krankenhaus liegen, weniger oft getestet werden und daher in der Studie kein suffizientes Ergebnis zeigen. Diese Vermutung bestätigt sich aber nicht, da die Patienten im Durchschnitt genauso oft getestet werden wie die Vergleichsgruppe der Patienten, die mindestens ein suffizientes Testergebnis zeigten. Der wahrscheinlichste Grund liegt also in der geringeren ASS-Dosierung. Durch die konsequente Umsetzung der Handlungsempfehlung und damit einer ausreichenden Medikation, liegt der Schluss nahe, dass sich dadurch der Anteil dieser Patienten reduzieren lässt.

In einem Versuch, bessere Grenzwerte für das Multiplate-Verfahren zu finden, wurde eine ROC-Analyse durchgeführt (s. Kap. 3.2.3). Die höchste Sensitivität und Spezifität zeigen sich laut ROC-Kurve bei einem Grenzwert von 69 U, dies entspricht einem normwertigen Ergebnis ohne Therapie. Bei Verwendung dieses Grenzwertes ergibt sich eine Suffizienzrate von 69,7%. Diese Rate liegt weiterhin unter der des LTA-Verfahrens. Bei der ROC-Analyse muss berücksichtigt werden, dass das LTA-Ergebnis in diesem Fall als richtig angenommen wurde und das Ergebnis der Multiplate-Analyse dazu ins Verhältnis gesetzt wurde. Um diese Problematik der ROC-Analyse bei dieser Fragestellung zu verdeutlichen, kann eine immunhistologische Diagnostik als Vergleich

herangezogen werden. Mit Hilfe einer Gewebeprobe wird eine Diagnose gesichert. Im Vorfeld können Blutmarker dazu dienen einen Hinweis auf eine Erkrankung zu geben. Um die Wertigkeit dieses Markers zu bestimmen, kommt die ROC-Analyse zu Einsatz. Sie ermöglicht eine Einschätzung der Sensitivität und Spezifität für einen Grenzwert des Markers. Dabei ist die pathologische Diagnose durch eine Gewebeprobe Voraussetzung und Goldstandard. Übertragen auf die vorliegende Analyse, stellt das LTA-Verfahren den Goldstandard dar und das Multiplate-Verfahren wird damit verglichen. Dabei ist zu beachten, dass die LTA-Analyse selbst nicht einer pathologischen Untersuchung gleichkommt. In der vorliegenden Studie zeigt sie in 86,3% der Fälle eine suffiziente ASS-Therapie an, dabei wurden retrospektiv nur 1,94% der Patienten als ASS-Non-Responder eingestuft. Diesen Umstand gilt es zu bedenken bei der Bewertung der ROC-Analyse.

Nichtsdestotrotz zeigt sich an der Stelle wieder, wie widersprüchlich die beiden Testverfahren sind und wie wenig aussagekräftig das Multiplate-Ergebnis in dieser Untersuchung ist. Anhand der Ergebnisse kann die Hypothese, dass die Grenzwerte aus der Literatur auch auf pädiatrische Patienten angewendet werden können, teilweise bestätigt werden. Die Werteverteilung der LTA-Ergebnisse in Abbildung 14 legt nahe, dass der vorgegebene Grenzwert auf Kinder übertragen werden kann. Bezüglich der Multiplate-Analyse kann die Frage allerdings nicht abschließend beantwortet werden, da die vorliegenden Werte in weite Bereiche streuen. Für die untersuchte Patientengruppe können keine konsistenten Grenzwerte für die Multiplate-Analyse definiert werden. Eine größer angelegte multizentrische Studie könnte in der Lage sein, Grenzwerte für eine suffiziente ASS-Therapie bei Anwendung der Multiplate-Analyse zu finden.

Abschließend für den Vergleich der beiden Testverfahren wurden die Korrelationen untereinander sowie zur jeweils verabreichten ASS-Dosis errechnet (s. Kap.3.2.4). Beide Verfahren beschreiben eine negative Korrelation zur ASS-Dosis, was naheliegend ist, da mit höheren Dosierungen zu erwarten ist, dass die Thrombozytenhemmung zunimmt und damit das jeweilige Ergebnis sinkt. Die Multiplate-Analyse zeigt eine bessere Korrelation als die LTA-Analyse. Wobei es sich bei ersterem um eine mittlere Effektstärke nach Cohen handelt. Die LTA-Analyse zeigt nur eine schwache Effektstärke. Vergleicht man beide Werte miteinander, ist es nur möglich, eine Rangkorrelation zu verwenden, da das LTA-Ergebnis nicht normalverteilt ist. Ohne den Gesamtzusammenhang scheint die

Multiplate-Analyse in diesem Punkt überlegen. Das Verfahren bildet die Steigerung der Dosis besser ab. Es gilt dabei aber zu berücksichtigen, dass bei der LTA-Analyse fünf Testungen vom Labor als <1 ausgegeben wurden. Die Messungen können methodenbedingt auch negative Werte annehmen, beispielsweise -5, diese werden aber als <1 dokumentiert. Um eine Analyse der Daten vornehmen zu können, wurden diese Werte gleich eins gesetzt, was zu einer Verzerrung der Ergebnisse bei der LTA-Analyse führt. Dies ist zu tolerieren, da der betroffene Wertebereich eine gute Hemmung beschreibt und daher keine Gefahr besteht, einen Patienten ohne ASS-Wirkung zu übersehen. Bestünde die Möglichkeit auch die negativen Testergebnisse auszuwerten zu können, würde sich möglicherweise die Korrelation von der LTA-Analyse verbessern. Durch die insgesamt geringe Korrelation der beiden Verfahren ist die Durchführung einer Regressionsanalyse nicht sinnvoll. Dies hätte dabei helfen können einen Koeffizienten zu errechnen, mit Hilfe dessen an Hand des ersten Testergebnisses die nötige Dosissteigerung errechnet hätte werden können.

Betrachtet man die beiden Scatter-Plots in Abbildung 14 und 15, zeigt sich, dass der reinen Korrelation nicht zu viel Bedeutung beigemessen werden sollte. Bei der LTA-Analyse sind die meisten Patienten innerhalb des therapeutischen Fensters unter 20% Restaggregation. Bei der Darstellung der Multiplate-Ergebnisse fallen zwei Dinge auf: Wenige Testungen liegen innerhalb des therapeutischen Fensters, darüber hinaus verteilen sich die Ergebnisse in einer homogenen Punktwolke. Viele der Testergebnisse liegen im oder über dem Normalbereich ohne Therapie.

An dieser Stelle ist zu erwähnen, dass der Hersteller der Multiplate-Analyse (Roche) nach Ende der vorliegenden Studie die Referenzwerte ohne Therapie für die Reagenzien geändert hat. Vor der Änderung lag der Bereich bei Arachidonsäure bei 70-115U. Nach der Änderung erstreckt sich der Bereich von 86-162U (70). Für die anderen Reagenzien gelten ähnliche Änderungen. Die Nachfrage bei dem Hersteller, wodurch die Änderung zustande kam, wurde nicht beantwortet. Es zeigt sich ein deutlich größerer Wertebereich, der als normale Thrombozytenfunktion erachtet wird. Dies deckt sich mit dem Ergebnis der vorliegenden Studie, die der Multiplate-Analyse eine hohe Wertestreuung nachweist. Auf die Studienergebnisse hat diese Änderung der Normwerte keinen Einfluss.

Im optimalen Fall sollten alle Patienten im jeweiligen Testverfahren im therapeutischen Bereich bei einer ASS-Dosierungen von 3-5 mg/kgKG liegen. Wobei dies rechnerisch eine schlechte Korrelation ergeben würde. Für die vorliegende Analyse ist nicht der reine Korrelationskoeffizient entscheidend, sondern die Werteverteilung, die sich aus ASS-Dosierung und Testergebnis ergibt. Das Bild der LTA-Analyse zeigt die meisten Patienten im therapeutischen Bereich. Die homogene Werteverteilung der Multiplate-Analyse über den Wertebereich von 6-168 A ist daher als nachteilig im Vergleich der Verfahren anzusehen.

Schließlich zeigt sich in der Korrelations-Analyse (Abbildung 16) der beiden Arachidonsäure-Testergebnisse ein schwacher Zusammenhang ($r=0,16$). Ergänzend dazu liegt die Interrater-Reliabilität zwischen der LTA-Analyse und der Multiplate-Analyse nach Cohen bei $k = 0,039$, was ebenfalls einer schwachen Übereinstimmung entspricht. Diese Ergebnisse decken sich mit dem Methoden-Vergleich bei erwachsenen Patienten mit leichter Blutungsneigung von Ghaithi et al. (67). Für das Arachidonsäure-Ergebnis wurde eine ebenfalls schwache Korrelation von $r=0,15$ festgestellt. Dabei gilt es zu beachten, dass bei der beschriebenen Studie kein ASS gegeben wurde. Betrachtet man die LTA-Analyse als den Goldstandard für die Thrombozytenfunktionsdiagnostik, sollte die Multiplate-Analyse in der Frage einer suffizienten ASS-Hemmung mehr mit dem Ergebnis der LTA-Analyse übereinstimmen.

In einer Pilotstudie zum Vergleich der beiden Verfahren bei erwachsenen Patienten vor elektiver Bypass-Operation von Velik-Salchner et al. zeigten sich ähnliche schlechte Werte in der Korrelation ($r=0,2$) zwischen dem Arachidonsäure-Ergebnis der LTA-Analyse und der Multiplate-Analyse (68). In zwei weiteren Studien von Yee et al und Schmugge et al., die sich mit dem Vergleich der LTA-Analyse zu anderen Verfahren bei pädiatrischen Patienten unter ASS-Therapie befassen, zeigt sich, dass die LTA-Analyse jeweils das am besten geeignete Verfahren darstellt und zu den anderen Verfahren kaum eine Korrelation besteht (55, 57). Diesen Ergebnissen folgt die vorliegende Studie was die Multiplate-Analyse im Vergleich zur LTA-Analyse betrifft. Die erwähnte Studie von Velik-Salcher et al. kommt zu dem Schluss, dass beide Verfahren eine ähnliche Spezifität und Sensitivität ausweisen und daher als gleichwertig zu betrachten sind (68).

Diese Aussage kann anhand der vorliegenden Ergebnisse nicht auf pädiatrische Patienten übertragen werden.

Die diskutierten Ergebnisse bestätigen die Hypothese, dass die LTA-Analyse für die vorliegende Patientengruppe das besser geeignete Testverfahren ist. Durch die weite Streuung bei den untersuchten Patienten deutet die Ergebnisse darauf hin, dass die Multiplate-Analyse für die Frage nach einer suffizienten ASS-Therapie einen nachrangigen Stellenwert einnehmen sollte.

4.1.3 Verfahrensanalyse

Das Ziel der Verfahrensanalyse (s. Kap3.3) war, aus den ausgewerteten Testungen der vergangenen acht Jahre das erfolgsversprechende Vorgehen herauszuarbeiten, um abschließend eine Handlungsempfehlung zu erstellen. Wie in Abbildung 17 gut zu sehen ist, kamen diverse Ansätze zum Einsatz, wie mit einem Testergebnis umgegangen werden kann. Eine Einordnung zu anderen Studien ist schwierig, da ähnliche Verfahrensanalysen bisher nicht veröffentlicht wurden.

Bei der Betrachtung von Dosis-Anpassungen nach erstem durchgeführtem Test muss berücksichtigt werden, dass an dieser Stelle nicht alle durchgeführten Testungen inkludiert wurden. Die Auswahl der Testung erfolgte nach dem in Kap.2.1 beschriebenen Schema. Von jedem Patienten wurde eine Testung für die zentrale Analyse ausgewählt. Anhand dieses Tests wurde ausgewertet, ob die Therapie angepasst oder erneut getestet wurde. Für die Verfahrensanalyse könnte das als Nachteil ausgelegt werden, da einige Testungen keine Berücksichtigung fanden. Dem steht gegenüber, dass Testungen ohne auswertbares Ergebnis oder ASS-Medikation, im klinischen Alltag keinen Grund darstellen sollten, die Dosierung zu verändern. Von besonderer Bedeutung für die Verfahrensanalyse ist der Umstand, dass die in der Studie verwendeten Grenzwerte im klinischen Alltag nicht klar definiert waren. Folglich werden hier Gruppen und Kategorien erst im Nachhinein gebildet, die es am Patientenbett nicht gab. Trotzdem ist es wichtig, die Grenzwerte retrospektiv zu verwenden, da diese in die folgende Handlungsempfehlung mit eingehen.

In Tabelle 6 sind die Änderungen nach der Durchführung eines oder beider Funktionstests dargestellt. Die Therapie mit ASS entspricht der Leitlinie der Fachgesellschaft für Pädiatrische Kardiologie, sowie unter anderem Studien von Motz et al. sowie Li et al. (5, 21, 27). Aus der Tabelle geht weiter hervor, dass bei den Patienten mit Dosis-Erhöhung initial eine deutlich geringere Dosierung verabreicht wurde als bei den anderen Patienten ohne Änderung der Therapie. Es stellt sich hier die Frage nach dem Grund für die Dosis- Erhöhung. Einerseits wird das Testergebnis eine Rolle spielen. Allerdings zeigten bereits einige Patienten vor der Erhöhung ein suffizientes Testergebnis. Daher hat vermutlich nicht nur das Testergebnis selbst einen Einfluss auf das weitere Vorgehen, sondern auch der Umstand, dass ein Test durchgeführt wurde. Das jeweilige Testverfahren hat die Aufmerksamkeit darauf gelenkt, dass die ASS-Medikation offensichtlich zu gering war. In der Folge wurde die Dosis teilweise auch dann erhöht, wenn schon initial eine suffiziente Hemmung vorlag.

In Abbildung 17 sind die Vorgänge dargestellt, die im Sinne der Handlungsempfehlung als Abweichung von dieser zu bewerten sind. Auffällig ist die deutlich höhere Abweichungsquote bei der Multiplate-Analyse mit 30% im Vergleich zur LTA-Analyse mit 14,8%. Eine Erklärung für das uneinheitliche Vorgehen ist die Unkenntnis der Grenzwerte für eine suffiziente Therapie sowie die Unsicherheit, wie ein Testergebnis zu interpretieren war. Ein weiterer Grund für eine erneute Testung kann in der klinischen Routine liegen, die das Ziel verfolgt, bei jedem Patienten beide Verfahren anzuwenden. Aus den Patientenakten geht nicht hervor, warum erneute Testungen vorgenommen wurden, daher kann diesbezüglich nur spekuliert werden.

Die Testauswertung erfolgte in drei Gruppen: Doppeltestung sowie zwei Einzeltestungen, da in der klinischen Routine bei zwei Testergebnissen Beide Berücksichtigung finden und nicht einzeln betrachtet werden. Bei der Bewertung dieser Ergebnisse kann eine unterschiedliche Gewichtung der Abweichungen vorgenommen werden. Die schwerwiegendere Abweichung besteht darin, dass ein insuffizientes Ergebnis eines Funktionstestes nicht weiterverfolgt oder keine eine Dosis-Erhöhung vorgenommen wird. In dem Fall könnte ein potenzieller ASS-Non-Responder übersehen werden. Im Vergleich dazu stellt ein erneuter Test bei initial suffizientem Testergebnis eine geringere Abweichung dar. Bei der LTA-Analyse bestand in allen vier Fällen die Abweichung darin,

dass trotz suffizientem Ergebnis erneut getestet wurde. In den meisten Fällen eines nicht weiter verfolgten insuffizienten Ergebnisses lag eine Multiplate-Analyse zu Grund. Eine Erklärung für diesen Umstand kann in den unterschiedlichen Suffizienzraten der beiden Verfahren gefunden werden. Wenn die LTA-Analyse deutlich häufiger suffiziente Ergebnisse zeigt, ist die größtmögliche Abweichung eine überflüssige erneute Testung durchzuführen. Sind hingegen die Ergebnisse des Multiplate Verfahrens deutlich häufiger insuffizient, entsteht der Eindruck, dass Patienten ohne ausreichende Thrombozytenhemmung, speziell in der Multiplate-Analyse, nicht weiter untersucht wurden.

In Tabelle 7 sind die Patienten gegenübergestellt, bei denen eine Testung erfolgte, mit jenen bei denen im Anschluss eine wiederholte Testung durchgeführt wurde. Neben den erwartbaren Ergebnissen, dass einfach getestete Patienten häufiger suffiziente Ergebnisse zeigen und zweifach getestete Patienten häufiger eine Dosis-Erhöpfung erhalten haben, kann man aus diesem Vergleich wichtige Erkenntnisse für die Handlungsempfehlung gewinnen. Wird sich im klinischen Alltag für eine erneute Testung und oder Dosiserhöhung entschieden, kann die Suffizienzrate um 41,7% gesteigert werden. Diese Erkenntnisse erlangten auch andere Studien von Schmutge et al. und Emani et al.. Beide Studien untersuchten kinderkardiologische Patienten unter ASS-Therapie mit Hilfe von Funktionstestverfahren, wie LTA-Analyse, *VerifyNow* oder PFA-100 (57, 71). Dies gilt unter der Voraussetzung, dass bei Vorliegen von zwei Ergebnissen das bessere gewertet wird. Zuvor suffiziente Patienten können in einem zweiten Test ein knapp insuffizientes oder nicht auswertbares Ergebnis zeigen. Daher kann man dem Vergleich ebenfalls entnehmen, dass bereits suffizient getestete Patienten, nicht erneut überprüft werden sollten. Bei einem insuffizienten Ergebnis lohnt es sich die ASS-Dosis zu erhöhen und auch erneut zu testen. Wie aus dem Testvergleich hervorgeht, liegt bei der LTA-Analyse die Suffizienzrate bei 86,3 %. Dies bedeutet aber nicht, dass die verbleibenden Patienten keine ASS-Wirkung zeigen. In dieser Studie wurde eine ASS-Non-Responder-Rate von 1,95 % festgestellt. Folgt man den Auswertungen zu erneut getesteten Patienten, liegt die Vermutung nahe, dass es möglich ist, bei konsequenter Erhöhung der Dosis und erneuter Testung, die Patienten zu identifizieren, welche wirklich keine labortechnisch nachweisbare ASS-Wirkung zeigen. Damit könnte die Lücke

zwischen 86,3% und 98% Suffizienzrate mit Hilfe der Handlungsempfehlung geschlossen werden.

Abbildung 18 veranschaulicht die gewonnenen Erkenntnisse aus der Verfahrensanalyse. Der Umgang mit den Testergebnissen bezüglich Dosis-Erhöhung und Wiederholung eines Tests zeigt sich uneinheitlich. Zum Abschluss der Verfahrensanalyse wurde in Abbildung 19 die Entwicklung der Testverfahren über den Studienzeitraum abgebildet. Im Laufe der Jahre kommen immer mehr Doppeltestungen zur Anwendung und weniger Einzeltests. Dazu ist die durchschnittliche ASS-Dosierung angestiegen. Aus der Beobachtung, dass im Verlauf immer weniger Doppeltestungen mit einer suffizienten LTA-Analyse bei gleichzeitig insuffizienter Multiplate-Analyse erneut überprüft wurden, lässt sich schließen, dass sich die Abläufe auf Station verbessert haben. Dies zeigt sich auch an der Steigerung der durchschnittlichen ASS-Dosierung.

Für die Beantwortung der Studienhypothese, ob im klinischen Alltag ein konsequentes Therapiemonitoring angewendet wird, ergibt sich ein geteiltes Bild, vor allem in den ersten Jahren, in denen die ASS-Therapie überwacht wurde, zeigt sich ein inkonstantes Vorgehen. Teilweise sind Patienten unterdosiert, insuffiziente Ergebnisse werden nicht verfolgt oder bereits suffiziente Patienten werden erneut getestet. Gründe dafür können in der Unkenntnis der Grenzwerte für eine suffiziente Therapie oder auch in der anfangs geringen Erfahrung mit den Testverfahren liegen. Allgemein entspricht das Vorgehen im Verlauf des ausgewerteten Zeitraumes zunehmend den Richtlinien, die in der Handlungsempfehlung definiert werden. Nichtsdestotrotz kann das Monitoring durch ein definiertes Vorgehen zusätzlich verbessert werden.

4.1.4 Handlungsempfehlung

Die Erkenntnisse aus der vorliegenden Studie werden als Grundlage dafür genutzt, eine Handlungsempfehlung für den klinischen Ablauf in der Abteilung für Angeborene Herzfehler – Kinderkardiologie am DHZB zu erstellen (Abbildung 20). Ziel ist eine Vereinheitlichung des diagnostischen Vorgehens zur Überprüfung der ASS-Therapie und eine daraus folgende verbesserte Behandlung der Patienten. Neben den hier gewonnenen Erkenntnissen fließen Ergebnisse aus anderen Studien in die Empfehlung ein.

Für die Verlegung der Patienten von der Intensivstation auf die Normalstation ist es notwendig, den zentralen Venenkatheter zu entfernen. Im Zuge dessen wird die antithrombotische Therapie von Heparin auf ASS umgestellt. Dabei soll eine leitliniengerechte Dosierung von 3 mg/kg KG gewählt werden. Bei ungünstigen Dosis-Mengen sollte aufgerundet werden. Die richtige Dosierung ist von entscheidender Bedeutung. Es zeigte sich, dass in der Vergangenheit einige Patienten unterdosiert waren. Dazu spielt die Dosierung für den Funktionstest eine Rolle, da ein schlechtes Ergebnis auf eine zu geringe Dosierung zurückzuführen sein kann. Eine ASS-Dosis von 3 mg/kg KG entspricht der unteren Grenze der Leitlinien-Empfehlung (9). Diese Dosierung bewirkt bei einigen Patienten schon eine ausreichende Hemmung der Thrombozyten. Über den Einfluss der Shunt-Operation auf die Funktionstestung kann in dieser Studie keine abschließende Antwort gefunden werden. Bei den vorliegenden Daten zeigt sich kein Einfluss. Bei Hofer et al. erreichte die Thrombozytenfunktion in der Multipalte-Analyse fünf Tage nach Operation das Ausgangslevel (49). Daher wird in der vorliegenden Handlungsempfehlung für eine Thrombozytenfunktionstestung ein Mindestabstand von fünf Tagen zur Operation empfohlen. Die vorliegenden Daten legen den Schluss nahe, dass in den allermeisten Fällen zu einem späteren Zeitpunkt getestet wird, zu dem wohl kein Einfluss der Operation mehr besteht.

ASS bewirkt bereits nach einer Stunde eine thrombozytenhemmende Wirkung (58). Der Funktionstest sollte regelhaft aber erst am Tag nach der ersten ASS-Gabe erfolgen. Durch die Verschiebung des Testes um einen Tag kann vermieden werden, dass erst Blut abgenommen und dann ASS gegeben wird. Im Einzelfall kann eine Testung auch wenige Stunden nach erster ASS-Gabe erfolgen. Eine Studie von Cholette et al., hat beobachtet, dass nach mehreren Tagen der ASS-Therapie die Hemmung in der Funktionsdiagnostik zunimmt (20). Dies legt nahe, dass nicht zu früh nach Therapie-Beginn getestet werden sollte und bestätigt den Nutzen von einer Testwiederholung zu einem späteren Zeitpunkt.

Aus den vorliegenden Ergebnissen dieser Studie geht hervor, dass die LTA-Analyse besser geeignet ist, die ASS-Therapie bei der vorliegenden Patientengruppe zu überwachen. Außerdem ist das Verfahren nach wie vor Goldstandard in der Diagnostik. Diesem Verfahren ist eindeutig der Vorzug zu geben. Die Multiplate-Analyse sollte nur im

Ausnahmefall zu Anwendung kommen, wenn die LTA-Analyse nicht zur Verfügung steht. Bei der Anmeldung im Labor ist darauf zu achten, dass die richtigen Reagenzien ausgewählt werden. Dabei soll für die Überwachung der ASS-Therapie neben Arachidonsäure als zweites Reagenz Kollagen für die Negativkontrolle der LTA-Analyse eingesetzt werden (53). Bei Multiplate wird TRAP als Negativkontrolle angewendet (43). Für die Überwachung von doppelter Plättchenhemmung kommt bei beiden Verfahren zusätzlich ADP zur Anwendung. Die vorliegende Studie hat gezeigt, dass das Ergebnis der Multiplate-Analyse von der Thrombozytenzahl des Patienten beeinflusst wird. Aus diesem Grund wird in der Handlungsempfehlung darauf hingewiesen, dass bei Thrombozytenwerten oberhalb des Normbereiches von 440 k/ μ l mit fehlerhaften Ergebnissen gerechnet werden muss.

Die Grenzwerte für eine suffiziente Therapie wurden der Literatur entnommen und in dieser Studie verwendet. Für eine suffiziente ASS-Therapie ist der Zielwert bei LTA: <20% Arachidonsäure (55-57) und bei Multiplate: <30U (8). Wird in initialer Testung der Grenzwert erreicht, ist die Therapie ausreichend. Sollte nach der Testung auffallen, dass die initiale Dosierung unter 3 mg/kgKG lag, kann diese entsprechend aufdosiert werden.

Erreichen die Testwerte fast die definierte Grenze (LTA: über 20 % aber unter 40%; Multiplate: über 30U aber unter 50U), soll die Dosis auf 4 mg/kg KG erhöht werden. Eine erneute Überprüfung ist nicht notwendig, da bereits der erste Test eine Hemmung der Thrombozyten gezeigt hat und davon auszugehen ist, dass auch höhere Dosen wirken bzw. zu einem Ergebnis im gewünschten Zielbereich führen. Die Werte wurden gewählt, da sie unter dem Grenzwert für eine normale Thrombozytenfunktion (Multiplate-Analyse:70U, LTA-Analyse: 70%) liegen und dem entsprechend von einer ASS-Wirkung auszugehen ist, die noch nicht ausreicht.

Liegen die Werte des Arachidonsäure Ergebnisses über 40% (LTA) oder über 50U (Multiplate), muss in jedem Fall die Dosis auf 4 mg/kgKG erhöht werden. Darüber hinaus muss mit dem Abstand von 24h nach der Erhöhung ein erneuter Test durchgeführt werden. Bei der Wiederholung ist unbedingt das gleiche Testverfahren anzuwenden, um eine Vergleichbarkeit der Testergebnisse zu erreichen. Ist das Ergebnis des zweiten Testes näher an der Grenze einer suffizienten Therapie, kann erwogen werden, die Dosis auf 5 mg/ kgKG zu erhöhen. Bei Werten <40% (LTA-Analyse) oder <50U (Multiplate-

Analyse) ist in diesem Fall ebenso das Therapieziel erreicht da eine Wirkung von ASS durch die positive Entwicklung des Testergebnisses bewiesen ist. Ist das zweite Testergebnis immer noch sehr hoch oder ist keine Tendenz für eine bessere Thrombozytenhemmung zu sehen, dann muss die Dosis auf 5 mg/kgKG angehoben werden, wobei ein dritter Test nach weiteren 24h erfolgt. Ist auch der dritte Test ohne positive Tendenz kann die Diagnose eines ASS-Non-Responders gestellt werden. Eine Umstellung auf Clopidogrel oder doppelte Plättchenhemmung sollte erfolgen. Eine multizentrische Vergleichsstudie von Wessel et al. hat gezeigt, dass Clopidogrel in Addition zu ASS keinen Vorteil bringt. Es war kein Unterschied im Auftreten von Todesfällen, Shunt-Thrombosen und Herztransplantationen zwischen der Gruppe mit konventioneller ASS-Therapie und Placebo zur ASS-Therapie mit ergänzender Clopidogrel-Gabe festzustellen(29). Diese Erkenntnis setzt die Wirkung von ASS voraus. Ist diese nicht vorhanden oder nicht ausreichend, kann daher auf Clopidogrel oder doppelte Plättchenhemmung zurückgegriffen werden.

In der vorliegenden Studie, wie auch in bereits publizierten Arbeiten (57, 71), konnte belegt werden, dass eine zunächst unzureichende Thrombozytenhemmung durch Dosis-Erhöhung überwunden werden kann. Außerdem reagieren Thrombozyten unterschiedlich stark auf die ASS-Medikation, daher sollte die Medikation nach den Schritten der Handlungsempfehlung erfolgen (69). So können auch zu hohe Dosen vermieden werden, wenn bereits die minimale Dosis von 3 mg/ kg KG eine ausreichende Hemmung zeigt. Andererseits weist auch der Goldstandard LTA-Analyse nur in 86,3% der Fälle eine suffiziente Therapie nach. Durch erneutes Testen in Verbindung mit einer Dosis-Erhöhung kann eine Steigerung dieser Rate um 41,7% erzielt werden. Aus diesem Grund müssen erst drei Funktionstestungen samt Dosis-Erhöhung erfolgt sein, um die Diagnose einer ASS-Non-Response stellen zu können. Durch mehrere Testungen samt Dosis-Erhöhung kann die Suffizienzrate erhöht werden, und nur die knapp 2% der Patienten verbleiben insuffizient, welche dann als ASS-Non-Responder einzustufen sind.

Ist das Therapieziel erreicht, muss die Therapie nicht erneut kontrolliert werden, außer es treten thrombotische Komplikationen auf. Es ist lediglich bei Verlaufskontrollen darauf zu achten, dass die initial definierte Dosierung bei Gewichtszunahme des Patienten

aufrechterhalten wird. Sonstige erneute Testungen stellen einen zusätzlichen Blutverlust dar und zeigen in diesem Fall keinen zusätzlichen Erkenntnisgewinn.

Ein besonderes Augenmerk ist auf die Kommunikation mit dem Labor zu legen, da in der Vergangenheit teilweise Unsicherheit von Seiten des Labors bestand, welche Reagenzien einzusetzen sind. Außerdem kann vermieden werden, dass zu viele Testreagenzien eingesetzt werden, wenn nur die ASS-Therapie analysiert werden soll. Abschließend muss bei auffälligen Negativkontrollen von Kollagen und TRAP mit dem Labor Rücksprachen gehalten werden, ob das Testergebnis eine verlässliche Aussage zulässt oder nicht. Gerade bei der LTA-Analyse ist die Erfahrung der durchführenden Laborfachkraft von wesentlicher Bedeutung (58).

Da es auf dem Gebiet der Therapie-Überwachung bei Kindern mit angeborenen Herzfehlern und aortopulmonalen Shunt wenige Forschungsarbeiten und demzufolge auch wenige Standards gibt, kann diese Handlungsempfehlung als Grundlage für weitere Forschungsansätze Verwendung finden, indem sie das vor allem interne ASS-Monitoring optimiert und Fehler in den Abläufen vermeidet. Ein zusätzlicher Vorteil liegt darin, dass das Schema jedem Funktionstest in einer anderen Klinik angepasst werden kann. Die Voraussetzung dafür ist die Definition eines entsprechenden Grenzwertes für eine suffiziente ASS-Therapie. Ein möglicher Ansatz könnte in einer prospektiven Vergleichsstudie liegen und der Frage nachgehen, inwieweit ein in dem Maße standardisiertes Monitoring einen Überlebensvorteil im Vergleich zur reinen Dosierung nach Gewicht ohne weitere Diagnostik bringt. Erst dann kann die Frage beantwortet werden, ob Funktionstests bei dieser Patientengruppe von Nutzen sind und inwieweit eine ASS-Non-Response von klinischer Relevanz ist. Obwohl es bisher noch keine Daten gibt, die ein verbessertes Outcome für Patienten durch Therapie-Monitoring belegen, zeigte sich in Studien, wie der von Romlin et al., dass bei den hier untersuchten Patienten, eine hohe Varianz in der Thrombozytenfunktion unter ASS-Therapie besteht. Daher sprechen sich Autoren wie Romlin et al. dafür aus, eine Dosierung an Hand eines Monitorings durchzuführen (6).

Für eine rein gewichtsadaptierte Therapie spricht der Umstand, dass eine wahre ASS-Non-Response oder eine ASS-Resistenz sehr selten ist, bei 1,94% in der vorliegenden Studie, aber mit Sicherheit weit unter 10% (55). Parallelen können an dieser Stelle zu

einer Studie von Rosenthal et al. gezogen werden (72). Diese befasst sich mit dem Vergleich zweier anti-thrombotischen Therapieschemata bei Kindern mit *ventricle assist device* (VAD). Es zeigte sich ein besseres Outcome, durch vermindertes Auftreten von Schlaganfällen bei der antithrombotischen Therapie nach Körpergewicht im Vergleich zur Titration an Hand von Funktionstestung. Der Unterschied zur vorliegenden Fragestellung ist, dass für die hier thematisierten Patienten eine solche Guideline-basiertes Therapieschema noch nicht existiert.

4.1.5 ASS-Non-Responder

In der Literatur findet oft der Begriff ASS-Resistenz Anwendung. Die Definition variiert hierbei, sie ist abhängig vom verwendeten Testverfahren sowie verabreichten Medikamenten. Dabei wird laborchemische und klinische Resistenz unterschieden, wobei erstere durch das Überschreiten eines Grenzwertes definiert wird und letztere durch Auftreten von thrombotischen Ereignissen. Manche Autoren sprechen indes davon, dass Laborresistenzen durch Dosis-Erhöhung überwunden werden können (57). Dies kann zu missverständlicher Interpretation des Begriffes führen, da er vermuten lässt, dass Thrombozyten eine Resistenz gegen das Medikament entwickeln können, und eine Dosis-Erhöhung daran nichts ändert. Diesen Umstand untersucht ein in-vitro Bluttest nicht. Geht man von der in dieser Studie verwendeten Definition aus, zeigen 17 Patienten (16,5%) eine laborchemische ASS-Resistenz. Diese Patienten erreichten in keinem ihrer Testergebnisse Werte unter 20% Restaggregation (LTA-Analyse) oder unter 30 AU (Multiplate-Analyse) (7, 8).

Da diese Studie den klinischen Fokus auf die ASS-Therapie und deren Monitoring bei Kindern mit aortopulmonalen Shunt legt, wurde der Begriff des ASS-Non-Responders etabliert. Dieser Begriff beschreibt Patienten, die trotz adäquater ASS-Therapie normal aggregierende Thrombozyten in einem Funktionstest aufweisen. Der Begriff des Non-Responders beschreibt am besten die Diagnose, welche ein Funktionstest stellen kann. Dabei spielt nicht nur das Testergebnis eine Rolle, sondern auch die dabei verabreichte ASS-Dosierung und mögliche Testwiederholungen. Cattaneo et al. schlagen in einer Grundlagenarbeit zum Thema ASS-Resistenz vor, eine echte ASS-Resistenz dadurch zu definieren, dass ASS das therapeutische Ziel, die Cyclooxygenase, nicht hemmt. Dies könnte man durch die Bestimmung des Thromboxan A₂-Wertes im Blut nachweisen (73).

Die Bestimmung dieses Parameters überschreitet den Horizont der klinischen Routine. Es ist lediglich möglich, das Abbauprodukt 11-dehydro Thromboxan B2 im Urin zu bestimmen. Dabei sind etwa 30% aus anderen Stoffwechselprozessen, weshalb der Parameter weniger spezifisch ist. (55). Eine Nachfrage hat ergeben, dass weder das DHZB-Labor noch das Labor Berlin in der Lage sind diesen Parameter zu bestimmen. Ein Funktionstest ist folglich nur in der Lage, die Restaktivität der Thrombozyten unter ASS-Therapie zu quantifizieren.

Die vorliegende Studie bestimmt zum ersten Mal die Rate der ASS-Non-Responder bei Kindern mit aortopulmonalem Shunt durch die Funktionstestung mittels der LTA-Analyse und Multiplate-Analyse. Bei Betrachtung der 17 Patienten ohne ein suffizientes Ergebnis in einem der beiden Testverfahren fallen dieselben Probleme ins Auge, wie in der Verfahrensanalyse: Bei zu geringer Dosierung erfolgt teilweise keine erneute Testung. Da diese Studie – dem Ergebnis von Schmutge et al. folgend - zu dem Schluss kommt, dass erneutes Testen und Dosis-Erhöhung eine höhere Suffizienzrate erzielen kann, konnten retrospektiv zwei der 17 Patienten anhand der Kriterien der Handlungsempfehlung als Non-Responder eingestuft werden (1,94%). Auf Grund der teilweise fehlenden Testwiederholungen und Dosis-Erhöhlungen ist es aber möglich, dass weitere Patienten auch als Non-Responder hätten eingestuft werden können, wenn diese entsprechend untersucht worden wären. Die klinische Relevanz dieser Erkenntnis muss kritisch hinterfragt werden, da keiner der beiden ASS-Non-Responder im Studienzeitraum einen Shunt-Verschluss oder andere Komplikationen erlitt. Die Komplikationen werden im folgenden Kapitel diskutiert. Die Frage der Relevanz stellen sich auch Yee et al. Im Hinblick auf die ASS-Resistenz, die bei einer Funktionstestung festgestellt werden kann (55). Die Antwort muss in einer prospektiven Kohortenstudie genauer untersucht werden.

In der Literatur sind weitere unterschiedliche Resistenzraten beschrieben, dabei finden verschiedene Testverfahren und Definitionen der Resistenz Anwendung. Die Raten werden von 2,3%-10,5 angegeben (20, 55, 57, 71). Vor allem die Arbeit von Schmutge et al. (57) ist hier von Interesse, da die LTA-Analyse ein Teil der verwendeten Testverfahren darstellt. Die Autoren beschreiben zunächst eine Resistenzrate von 6,7%. Diese Rate sinkt durch die Erhöhung der Dosis, kann aber nicht genauer bestimmt

werden auf Grund von fehlenden Follow-up-Daten. Die vorliegende Studie bestätigt diese Erkenntnis. Wenn eine vermeintliche ASS-Resistenz durch eine Dosis-Erhöhung überwunden werden kann, scheint eher eine zu niedrige Dosierung der Grund für das initial schlechte Testergebnis als ein tatsächliches Nicht-Wirken von ASS.

4.1.6 Komplikationen

Die ASS-Therapie und deren Monitoring zielt darauf ab, das Auftreten der schwersten Komplikation nach Shunt-Operation – den Shunt-Verschluss - zu vermeiden. Die Inzidenz für einen Shunt-Verschluss in der vorliegenden Studie liegt bei 13,6% (s. Kap.3.1 Tabelle 4). In einer großen multizentrischen Studie von Li et al., die sich mit dem Outcome von Patienten beschäftigt, welche mit aortopulmonalem Shunt versorgt wurden, zeigte sich eine ähnliche Verschlussrate von 12%. In anderen Arbeiten variieren die Inzidenzen eines Shunt-Verschlusses in einem ähnlichen Bereich von 6,8% - 15% (74, 75). Neben den Shunt-Verschlüssen wurden in der vorliegenden Arbeit auch andere thrombotische Ereignisse dokumentiert. In vier Fällen kam es zu einer Thrombose in der oberen oder unteren Hohlvene (Inzidenz: 3,9%) und einem Verschluss der Vena femoralis (Inzidenz: 0,9 %). Manhiot et al. stellten in ihrer Arbeit von 2011 mit 2,5% und 0,9% ähnliche Raten fest (76).

Auffällig ist der Zeitpunkt des Auftretens eines Verschlusses. 57% der Verschlüsse ereignen sich am Tag der Operation oder am Folgetag. Die verbliebenen sechs Verschlüsse ereigneten sich zu einem späteren Zeitpunkt (Median=1 Tag). Das Ergebnis deckt sich mit den Studiendaten von Cholette et al., die sich mit dem Thrombose-Risiko bei pädiatrischen Patienten nach palliativem kardiochirurgischem Eingriff beschäftigt. Hier wurde ebenfalls berichtet, dass thrombotische Komplikationen vereinzelt bis zu 9 Monate nach der initialen Operation auftreten können, aber vor allem die unmittelbare postoperative Zeit ein höheres Risiko birgt (77). Dabei ist zu beachten, dass in der initialen postoperativen Phase Heparin zur Vermeidung des Shunt-Verschlusses eingesetzt wird. ASS findet erst nach der Entfernung aller Drainagen sowie des zentralen Venenkatheters Anwendung. So ereignete sich bei den hier untersuchten Patienten in zwölf Fällen der Verschluss unter Heparin-Therapie. Ein weiterer Patient erhielt zum Ereignis sowohl Heparin und ASS und der verbleibende Verschluss trat unter singulärer ASS-Therapie auf. Damit trägt die am DHZB durchgeführte Therapie mit ASS und deren

Überwachung dazu bei im späteren Therapieverlauf das Risiko eines Shunt-Verschlusses zu minimieren. Die verbleibende, kritische Phase ist unmittelbar nach der Operation. Folglich wundert es nicht, dass bei nur zwei Patienten vor dem Shunt-Verschluss eine Thrombozytenfunktionstest erfolgte, da die Testung erst nach Umstellung von Heparin auf ASS erfolgen kann. Zwölf der Patienten zeigten nach ihrem Verschluss-Ereignis eine suffiziente Hemmung, wie jene beiden Patienten, die vor dem Verschluss getestet wurden. Bei den zehn verstorbenen Patienten ereignete sich in einem Fall ein Shunt-Verschluss 108 Tage nach der Operation. Der Verschluss trat in diesem Fall am ersten postoperativen Tag auf.

Alsoufi et al. dokumentiert in der Untersuchung von Todesursachen bei Patienten nach mBT-Shunt Operation, dass in zwei von 31 Todesfällen eine Shunt-Thrombose vorangegangen war (78). Dies beschreibt eine ähnliche Häufigkeit, lässt aber, wie bei den vorliegenden Daten keine valide Aussage auf einen möglichen Zusammenhang zu. Die Verteilung des Auftretens von Shunt-Verschläüssen lässt vermuten, dass die Durchführung von Thrombozytenfunktionstestungen kein adäquates Mittel darstellen, eine Verschluss-Ereignis früh zu erkennen oder vorherzusagen.

Diese Erkenntnis deckt sich mit der Arbeit von Cholette et al. (20). In dieser Studie wird kein Zusammenhang zwischen einem schlechten Testergebnis und dem Auftreten einer Thrombose gesehen. Die Autoren schließen daraus, dass der Funktionstest ex-vivo eine Aggregationshemmung durch ASS feststellen kann, eine dabei festgestellte ASS-Resistenz aber nicht gehäuft bei Patienten mit Thrombose zu finden ist. Im Gegensatz dazu beschreibt Emani et al. einen Zusammenhang zwischen Thrombozytenfunktion und Auftreten einer Thrombose. Bei sechs von zehn Patienten mit Thrombose lag ein insuffizientes Funktionstestergebnis vor (71). Die Studie von Emami et al. kam ebenso zu der Erkenntnis, dass thrombotische Ereignisse vor allem kurz nach der Operation auftreten. Sowohl Emani et al., als auch Cholette et al. verwendeten das VerifyNow-System zur Überwachung der Thrombozytenfunktion. Beide Arbeiten untersuchten pädiatrische Patienten unter ASS-Therapie nach einem kardiochirurgischen Eingriff. Dabei wurden neben der Norwood-Operation weitere Eingriffe miteingeschlossen, wie die Fontan-Operation oder komplexe Klappenrekonstruktionen. Ebenso wurde in beiden Studien ein Zusammenhang der Thrombozytenfunktion zum allgemeinen Auftreten von

Thrombosen untersucht. Ein Vergleich der zitierten Studien mit der vorliegenden Arbeit ist folglich nur bedingt möglich, da die jeweiligen Patientengruppen weiter gefasst wurden und auch deutlich ältere Patienten eingeschlossen wurden. Insgesamt gibt es kaum Arbeiten auf diesem Forschungsgebiet, die ähnlichen Fragestellungen nachgehen. Die vorliegende Arbeit ist die erste, die dediziert Norwood-Patienten unter ASS-Therapie mit Thrombozytenfunktionstestung auf das Auftreten von Shunt-Verschläüssen hin untersucht.

Die Studienhypothese, dass Funktionstestungen möglicherweise als Früherkennung für einen Shunt-Verschluss dienen können, kann, auf Grund mangelnder Daten, nicht abschließend beantwortet werden. Der Umstand, dass die meisten Patienten mit einem Verschluss später eine suffiziente Hemmung zeigten und das Verschlussereignis oft unmittelbar nach OP unter Heparin-Therapie auftrat und somit vor der Funktionstestung stellt die Relevanz der Funktionstestung sowie der Diagnose ASS-Non-Response in Frage. Bei den beiden in dieser Studie diagnostizierten Non-Respondern traten erfreulicherweise keine Komplikationen auf. Wie bereits weiter oben ausgeführt, sind Shunt-Verschläüsse unter ASS-Therapie selten, ebenso wie das Auftreten von ASS-Non-Respondern. Daher ist eine große multizentrische Vergleichsstudie notwendig, um hier einen möglichen Zusammenhang belegen oder verneinen zu können.

4.1.7 Explorative Datenerhebung

Im abschließenden Teil der vorliegenden Studie wurden explorative Ansätze verfolgt, um mögliche Ursachen für die Varianz zwischen den beiden Testverfahren zu finden. Die Ergebnisse sind als erster Ansatz zu werten und müssen in weiteren Studien ausführlicher beleuchtet werden.

Einen Schwerpunkt auf dem Gebiet der Thrombozytenfunktionstestung bildet der Einfluss von Operationen auf die Funktionstestung. Dabei zeigte sich, dass die Thrombozytenzahl und -funktion durch die Shunt-Operation ab. Hofer et al und Bonding Andreasen et al. nennen die Anwendung einer Herz-Lungen-Maschine und therapeutische Hypothermie als mögliche Ursachen für die abnehmende Thrombozytenfunktion. Diese entsteht durch einen erhöhten Verbrauch der Thrombozyten, durch Verdünnung des Blutes und damit auch der Gerinnungsfaktoren

sowie durch Hyperfibrinolyse. (49, 79). In der vorliegenden Studie wurde kein Funktionstest vor der Operation als Vergleichswert erhoben. Um den Einfluss der Operation auf die Testverfahren dennoch beleuchten zu können, wurde ein Gruppenvergleich zwischen frühgetesteten und spätgetesteten Patienten im Hinblick auf den Zeitpunkt der Operation durchgeführt (s. Kap. 3.6.1). Diese Analyse erfolgte, um bei möglichen Unterschieden, eine potenzielle Grenze für die Handlungsempfehlung definieren zu können, vor der nach Möglichkeit keine Funktionstestung erfolgen sollte.

Ein Unterschied in den Ergebnissen der Funktionstests unter Berücksichtigung des Testzeitpunktes besteht nicht. Neben der initialen Aufteilung mit dem cut-off 14 Tage nach OP wurde derselbe Vergleich mit 7 Tagen als Grenzwert durchgeführt und kam zu demselben Ergebnis. Die frühgetesteten Patienten lagen kürzer auf der Intensivstation, erhielten geringere Dosierungen Heparin und waren zum Operationszeitpunkt älter. Dieses Ergebnis scheint plausibel und ist auf den unterschiedlichen Krankheitsverlauf der Patienten zurückzuführen. Im Regelfall erfolgte die Funktionstestung über 14 Tage nach Operation. Hinsichtlich der Funktionstestergebnisse zeigt sich kein Unterschied zwischen den Gruppen, ein Einfluss der Operation auf das jeweilige Funktionstestergebnis ist bei den vorliegenden Daten zu verneinen. Ein Einfluss der Operation auf einen Funktionstest wird von Hofer et al. nur unmittelbar nach der Operation beschrieben. Bereits nach fünf Tagen hat sich die Thrombozytenfunktion in der Multiplate-Analyse wieder auf Ausgangsniveau bewegt (49). Daher lautet die Schlussfolgerung, dass die Testung auf ASS-Wirksamkeit in einem Abstand zur Operation erfolgt, bei dem kein Einfluss der Operation auf das Testergebnis zu erwarten ist. Der Studie von Hofer et al. folgend wurde ein Mindestabstand von fünf Tagen zwischen Operation und Funktionstestung für die Handlungsempfehlung definiert. Aus den vorliegenden Studiendaten können bezüglich des Einflusses der Operation auf die Funktionsdiagnostik keine weiteren Aussagen getroffen werden, da nur sechs Patienten innerhalb der ersten fünf Tage nach Operation getestet wurden, und es außerdem keine Vergleichswerte für die Thrombozytenfunktion vor der Operation gibt.

Bei der Untersuchung auf Unterschiede der Testergebnisse im Hinblick auf das Alter der Patienten (s. Kap. 3.6.2 Abbildung 21) ist das Arachidonsäure-Testergebnis in der LTA-Analyse bei Patienten unter einem Jahr signifikant geringer als bei Patienten über einem

Jahr. Dieser Unterschied ist bei der Multiplate-Analyse nicht festzustellen. Auch bei den anderen angewendeten Reagenzien der beiden Verfahren tritt der Unterschied nicht auf. Die Studie von Halimeh et al. beschreibt ein gegensätzliches Resultat. Die Autoren untersuchten gesunde Patienten mit der Multiplate-Analyse, um Referenzwerte für Kinder zu etablieren. Kindern unter einem Jahr hatten eine geringere Thrombozytenfunktion im ASPI- sowie TRAP-Test (46). Dabei ist zu beachten, dass die Patienten in der vorliegenden Studie unter ASS-Therapie standen, bei der Referenzstudie von Halimeh et al. war dies nicht der Fall. Die Anzahl und Altersstruktur der Patienten müssen ebenfalls ins Blickfeld rücken. Halimeh et al. untersuchten in ihrer Studie verschiedene Altersgruppen von etwa 90 Patienten. Die Gruppe der unter einjährigen Kindern umfasste dabei nur 20 Patienten. In der vorliegenden Studie enthält die untersuchte Gruppe 90 Patienten und nur 13 Patienten sind älter als ein Jahr. Weiter stellt die vorliegende Studie fest, dass kein Unterschied in der Funktionstestung zwischen Neonaten und Säuglingen besteht. Abschließend ist die Frage des Einflusses vom Patientenalter auf die Funktionstestung wegen der geringen Fallzahlen nicht zu beantworten, weitere Studien könnten hier valide Forschungsergebnisse liefern.

Um der Auffälligkeit bezüglich des Zusammenhangs von Testergebnissen der Multiplate-Analyse und Thrombozytenzahl auf den Grund zu gehen, wurde eine Korrelationsanalyse durchgeführt (s. Kap 3.6.3 Abbildung 22). Dabei fiel ein starker linearer Zusammenhang zwischen den Multiplate-Testergebnissen und der jeweiligen Thrombozytenzahl auf. Demgegenüber steht ein deutlicher geringerer Einfluss der Thrombozytenzahl auf die LTA-Analyse. Bei der Multiplate-Analyse besteht auch bei Ausschluss nicht normwertiger Thrombozytenzahlen eine mittlere lineare Korrelation zum Testergebnis. Dieses Ergebnis widerspricht der Arbeit von Toth et al., hier wurde keine Korrelation zwischen Multiplate-Testergebnis und normwertigen Thrombozyten festgestellt (45). Bei jener Studie handelt es sich allerdings um eine Vergleichsstudie bei gesunden Erwachsenen, womit sich der Unterschied zur vorliegenden Studie erklären werden kann.

Bei Werten unterhalb des Normbereiches zeigt sich keine Korrelation zwischen Thrombozytenzahl und jeweils der LTA- oder Multiplate-Analyse. Dies steht im Gegensatz zu dem Ergebnis von Hofer et al.. Hier wurden 50 pädiatrische Patienten perioperativ mehreren Multiplate-Testungen unterzogen. Es zeigte sich ein

Zusammenhang der Multiplate-Analyse und Thrombozytenzahlen unter 80-100 K/ μ l (49). Dabei ist nicht ersichtlich, wie viele von den Patienten unter der beschriebenen Grenze der Thrombozytenzahlen lagen. In der vorliegenden Studie war das bei acht Patienten der Fall, worin auch die Ursache dafür liegen könnte, dass keine Korrelation unterhalb normwertiger Thrombozytenzahlen gefunden wurde. Außerdem standen die Patienten in der Studie von Hofer et al. nicht unter ASS-Therapie. Oberhalb des Normbereiches der Thrombozyten ergab sich eine starke lineare Korrelation bei den ASPItest und TRAPtest (Multiplate-Analyse). Diese Zusammenhänge scheinen nachvollziehbar, da es sich bei der Multiplate-Analyse um eine Vollblut-Methode handelt, und somit ein Einfluss der physiologischen Blutkonstellation auf das Testergebnis bestehen kann. Der Einfluss scheint in dieser Studie eher negativ zu sein. Die meisten Studien, die sich mit Thrombozytenfunktionsdiagnostik beschäftigen, sehen die Verwendung von Vollblut als Vorteil, da sich die Thrombozyten in physiologischer Umgebung befinden. Es ist keine Zentrifugation nötig, die zum Verlust von großen, hyper- oder hypoaktiven Thrombozyten führt und folglich unphysiologische Bedingungen schafft. (47, 48, 52). Allerdings gibt es auch Autoren, die Vollblutmethoden kritisch sehen. Grund hierfür ist der Einfluss der anderen Blutbestandteile auf das Testergebnis, welche die Spezifität der Verfahren für den pharmakologischen ASS-Effekt vermindert (55). In dieser Studie wurde erstmals ein Zusammenhang zur Thrombozytenzahl bei pädiatrischen Patienten mit aortopulmonalem Shunt unter ASS-Therapie festgestellt, ob dies an der Verwendung von Vollblut liegt oder andere Gründe hat, muss in weiteren Studien geklärt werden.

Der Vollständigkeit halber soll an dieser Stelle auch die Studie von Ghaithi et al. Erwähnung finden (67). Bei dieser Studie an Erwachsenen mit Blutungsneigung wurde ebenfalls eine lineare Korrelation der beiden Testverfahren zur Thrombozytenzahl gefunden. Diese war allerdings sehr gering und betraf nicht den Arachidonsäure-Test.

Auch bei normwertigen Thrombozyten liegt die Rate der suffizient gehemmten Patienten bei der Multiplate-Analyse mit 21,4% immer noch deutlich unter den 86,3% der LTA-Analyse. Daraus kann der Schluss gezogen werden, dass nicht die hohen Thrombozyten-Werte verantwortlich für die mangelnde Aussagekraft der Multiplate-Analyse sind. Diese Analyse ist ein weiterer Aspekt im Vergleich der beiden Testmethoden, der zeigt, dass für ein Monitoring von ASS bei Kindern mit aortopulmonalen Shunt in erster Linie die LTA-

Analyse herangezogen werden sollte, da ein optimales Testverfahren unabhängig von anderen Blut-Parametern sein sollte.

4.2 Limitationen

Zu den Limitationen dieser Studie gehört, dass nur retrospektive Daten aus einer Klinik ausgewertet wurden. Es wurden nur Patienten unter bestimmten Voraussetzungen eingeschlossen, um eine möglichst homogene Studienkohorte zu erreichen. Hierdurch reduzierte sich zwangsläufig die Zahl der möglichen Studienpatienten. Über Ursache und Wirkung kann auf Grund des retrospektiven Studiendesigns nur spekuliert werden. Weiter kann es durch die monozentrische Auslegung der Studie zu Verzerrung der Daten kommen.

Für den Vergleich von LTA- und Multiplate-Analyse konnten wichtige Ergebnisse erzielt werden, teilweise beruhen diese aber auf einer sehr geringen Anzahl von Probanden. Für die Verfahrensanalyse konnten deutlich mehr Testungen ausgewertet werden, dabei ist die Beschränkung auf die LTA- und Multiplate-Analyse eher limitierend, da einige weitere Verfahren zur Thrombozytenfunktionstestung existieren. Da diese am DHZB keine Anwendung finden, können sie dementsprechend auch nicht mit in den Vergleich einbezogen werden. Gleichwohl muss bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden, dass bei der Verfahrensanalyse des klinischen Ablaufes die zur Anwendung kommenden Grenzwerte nicht bekannt waren. Außerdem stammen diese Grenzwerte vorwiegend aus Studien an erwachsenen Patienten. Bis jetzt existiert lediglich eine Studie von Halimeh et al., die sich mit der Etablierung von Normwerten bei der Multiplate-Analyse beschäftigt. Dabei wurden 20 Kinder im Alter unter einem Jahr untersucht (46) Angaben der Hersteller beziehen sich ebenfalls auf die Untersuchung bei Erwachsenen. Dabei ist bekannt, dass sich Thrombozyten bei pädiatrischen Patienten von denen erwachsener Patienten unterscheiden (46). Allgemein können auf Grund der sehr spezifischen Fragestellung und der geringen Anzahl an Patienten, die einer solche Therapie bedürfen, wenige Arbeiten zum Vergleich mit den vorliegenden Ergebnissen herangezogen werden. Oft muss auf vom Thema abweichende Publikationen an Erwachsenen, an Patienten ohne ASS-Therapie oder zu anderen Testverfahren zurückgegriffen werden. Bezüglich der Methodik ist zu berücksichtigen, dass es keine Vergleichsgruppe gab, die eine Testung ohne ASS-Therapie erhalten hat. Ebenso

wurden keine Testungen vor der Shunt-Operation durchgeführt, die als Vergleich hätten dienen können, oder eine Analyse der Testergebnisse im Verlauf zugelassen hätte.

4.3 Schlussfolgerung

Die vorliegende retrospektive Datenanalyse der Patienten mit aortopulmonalem Shunt und Thrombozytenfunktionstestung am DHZB hatte das Ziel, zwei der zur Verfügung stehenden Verfahren zum ASS-Therapiemonitoring zu vergleichen. Dabei zeigte sich, dass bei Patienten mit aortopulmonalem Shunt die LTA-Analyse der Multiplate-Analyse überlegen zu sein scheint. Anhand der vorliegenden Daten kann die Tendenz abgelesen werden, dass die Multiplate-Analyse für die hier untersuchten Patienten ungeeignet ist. Eine Abhängigkeit der Multiplate-Ergebnisse von der jeweiligen Thrombozytenkonzentration des Patienten ist deutlich erkennbar. Auch unter Ausschluss der besonders beeinflussenden hohen Thrombozytenwerte zeigt die Multiplate-Analyse einem Viertel der Fälle eine suffiziente ASS-Therapie an. Bei der LTA-Analyse war dies in knapp 90% der Fall. Dabei scheinen die bekannten Grenzwerte für eine suffiziente ASS-Therapie stimmig, bei der Multiplate-Analyse war es auf Grund der weit gestreuten Testergebnisse nicht möglich, konsistente Grenzwerte zu definieren. Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um den ersten Vergleich der beiden Verfahren bei Patienten mit aortopulmonalem Shunt unter ASS-Therapie. Besonders hervorzuheben sind 46 Patienten, bei denen beide Testverfahren zum gleichen Zeitpunkt durchgeführt wurden und daher die bestmöglichen Voraussetzungen für einen Verfahrensvergleich bieten. In der Behandlung der Patienten mit aortopulmonalem Shunt konnte durch die Gabe von ASS das Risiko von Komplikationen wie einer Shunt-Thrombose gesenkt und damit das Outcome verbessert werden. Was die Überwachung der Therapie betrifft, herrscht Uneinigkeit. Es finden viele Verfahren Anwendung, mit unterschiedlichen Definitionen für eine suffiziente Therapie. In der vorliegenden Studie wurde gezeigt, dass das Multiplate-Verfahren zwar vielversprechend ist und gerade für pädiatrische Patienten durch die geringe Probenmenge und die schnelle Auswertbarkeit Vorteile mit sich bringt. Durch die divergenten Ergebnisse bleibt die Multiplate-Analyse aber weiterhin der LTA-Analyse als Goldstandard unterlegen.

Die durchgeführten Verfahrensanalyse belegt, dass vor allem zu Beginn des Studienzeitraumes uneinheitlich vorgegangen wurde. Aus der Analyse geht eine

Handlungsempfehlung hervor, die im klinischen Alltag angewendet werden kann, mit dem Ziel, Abläufe zu standardisieren und damit zu verbessern. Mit Hilfe der Handlungsempfehlung können prospektive Vergleichsstudien durchgeführt werden, die zeigen, wie viele Patienten tatsächlich eine unzureichende ASS Wirkung aufweisen. Erst mit den Erfahrungen eines etablierten Monitorings kann man sich der Frage widmen, inwieweit eine Therapieüberwachung das Outcome der Patienten gegenüber einer rein gewichtsadaptierten Dosierung verbessert. Ein Ansatz für weitere Studien kann die Funktionstestung vor der Operation darstellen, um an Hand des Vergleichswertes den Therapieerfolg einschätzen zu können. Möglicherweise führt nicht ein definitiver Grenzwert zu einem besseren Monitoring, sondern der Abfall der Aggregation um einen definierten Wert.

Schon jetzt werfen Autoren die Frage auf, welche Relevanz das Erkennen eines ASS-Non-Responders und damit das Therapiemonitoring hat. Auch diese Studie weist nach, dass der zu vermeidende Shunt-Verschluss vor allem kurz nach der Operation unter Heparin-Therapie auftritt. Zu einem späteren Zeitpunkt unter ASS-Therapie sind Shunt-Verschlüsse glücklicherweise selten. Wegen des bis dato uneinheitlichen Vorgehens muss erst ein Standard mit Hilfe der Handlungsempfehlung etabliert werden, der dann auf einen möglichen Überlebensvorteil hin überprüft werden kann. Somit ist die vorliegende retrospektive Querschnittsstudie als Grundstein für darauf aufbauende multizentrische, prospektive Vergleichsstudien zu sehen. Ein Verzicht auf das Monitoring und damit eine schlichte Dosierung nach Körpergewicht ist noch verfrüht.

5 Literaturverzeichnis

1. Lindinger A, Schwedler G, Hense HW. Prevalence of congenital heart defects in newborns in Germany: Results of the first registration year of the PAN Study (July 2006 to June 2007). *Klin Padiatr.* 2010;222(5):321-6.
2. Haas N, Kleideiter U, Larsen R, Obladen M, Maier R, Schäfer S, Kirsch F, Scheuermann G, Wagner R, Teising D. *Kinderkardiologie: Klinik und Praxis der Herzerkrankungen bei Kindern, Jugendlichen und jungen Erwachsenen.*
3. BLALOCK A, TAUSSIG HB. THE SURGICAL TREATMENT OF MALFORMATIONS OF THE HEART: IN WHICH THERE IS PULMONARY STENOSIS OR PULMONARY ATRESIA. *Journal of the American Medical Association.* 1945;128(3):189-202.
4. Lange R, Hörer J. Funktionell singuläre Ventrikel und Fontan-Operation. In: Ziemer G, Haverich A, editors. *Herzchirurgie: Die Eingriffe am Herzen und an den herznahen Gefäßen: Springer-Verlag; 2010. p. 331-63.*
5. Hager A, Ovroutski S., Cesnjevar R. Leitlinie Pädiatrische Kardiologie: Univentrikuläres Herz 2011 [cited 2019 July 19]. Available from: http://www.kinderkardiologie.org/fileadmin/user_upload/Leitlinien/23%20LL%20Univentrikulaeres%20Herz.pdf.
6. Huang JY, Soeharto DA, Damara I, Ignjatovic V, Linden MD, Monagle P. Antiplatelet Therapy Monitoring in Neonates and Children. *Semin Thromb Hemost.* 2019;45(1):73-85.
7. Gum PA, Kottke-Marchant K, Poggio ED, Gurm H, Welsh PA, Brooks L, Sapp SK, Topol EJ. Profile and prevalence of aspirin resistance in patients with cardiovascular disease. *Am J Cardiol.* 2001;88(3):230-5.
8. von Pape K-W, Dzijan-Horn M, Bohner J, Spannagl M, Weisser H, Calatzis A, editors. Control of aspirin effect in chronic cardiovascular patients using two whole blood platelet function assays: PFA-100 and multiple electrode aggregometry. 36th Hemophilia Symposium Hamburg 2005; 2007: Springer.
9. Haas N. A. JC, Photiadis J., Kramer H.-H. Leitlinie Pädiatrische Kardiologie: Hypoplastisches Linksherzsyndrom (HLHS) [Internet]. 2013 [cited 2019 July 19]. Available from: http://www.kinderkardiologie.org/fileadmin/user_upload/Leitlinien/29%20LL%20Hypoplastisches%20Linksherzsyndrom.pdf.
10. Shinebourne EA, Macartney FJ, Anderson RH. Sequential chamber localization--logical approach to diagnosis in congenital heart disease. *Br Heart J.* 1976;38(4):327-40.

11. Eicken A. BH, Sachweh J. S., Weil J. Leitlinie Pädiatrische Kardiologie: Pulmonalatresie mit Ventrikelseptumdefekt (PA-VSD) [Internet]. 2012 [cited 2019 July 19]. Available from: http://www.kinderkardiologie.org/fileadmin/user_upload/Leitlinien/24%20LL%20Pulmonalatresie%20mit%20Ventrikelseptumdefekt.pdf.
12. Bertram H. HM, Horke A. Leitlinie Pädiatrische Kardiologie: Pulmonalatresie mit intaktem Ventrikelseptum (PA-IVS) [Internet]. 2015 [cited 2019 July 19]. Available from: http://www.kinderkardiologie.org/fileadmin/user_upload/Leitlinien/2015_02_18_PA-IVS_Leitlinie_DGPK_2015_c.pdf.
13. Lindinger A. HNA, Sachweh J. Leitlinie Pädiatrische Kardiologie: Atrioventrikulärer Septumdefekt (AVSD) [Internet]. 2013 [cited 2019 July 19]. Available from: http://www.kinderkardiologie.org/fileadmin/user_upload/Leitlinien/LL%20AVSD.pdf.
14. Bertram H, Weil J, Sachweh J. Leitlinie pädiatrische Kardiologie: Double Outlet Right Ventricle (DORV)." 2013 [Available from: http://www.kinderkardiologie.org/fileadmin/user_upload/Leitlinien/26%20LL%20Double%20Outlet%20Right%20Ventricle.pdf.
15. Vogt M. SC, Schmitt K., Paul T. Leitlinie Pädiatrische Kardiologie: Ebstein-Anomalie der Trikuspidalklappe [Internet]. 2014 [cited 2019 July 19]. Available from: http://www.kinderkardiologie.org/fileadmin/user_upload/Leitlinien/LL_Ebstein-Anomalie_der_Trikuspidalklappe_02_04_2014_2016_05_19.pdf.
16. A. HN, Sachweh J, Dähnert I. Leitlinie Pädiatrische Kardiologie: Truncus arteriosus communis (TAC) 2013 [Available from: http://www.kinderkardiologie.org/fileadmin/user_upload/Leitlinien/LL%20Truncus%20DGPK-2013finaliAASMO02_11_%2013.pdf.
17. Rickers C. HA, Paul T. Leitlinie Pädiatrische Kardiologie: D-Transposition der großen Arterien [Internet]. 2013 [cited 2019 July 19]. Available from: http://www.kinderkardiologie.org/fileadmin/user_upload/Leitlinien/25%20LL%20D-Transposition%20der%20grossen%20Arterien.pdf
18. Pschyrembel W. Pschyrembel. Klinisches Wörterbuch. 266. aktual. Aufl: Berlin, Boston: De Gruyter; 2014.
19. Castaneda A. Angeborene Herzfehler - eine chirurgisch-geschichtliche Betrachtung. In: Ziemer G, Haverich A, editors. Herzchirurgie: Die Eingriffe am Herzen und an den herznahen Gefäßen: Springer-Verlag; 2010. p. 213-20.
20. Cholette JM, Mamikonian L, Alfieris GM, Blumberg N, Lerner NB. Aspirin resistance following pediatric cardiac surgery. *Thromb Res.* 2010;126(3):200-6.

21. Li JS, Yow E, Berezny KY, Rhodes JF, Bokesch PM, Charpie JR, Forbus GA, Mahony L, Boshkov L, Lambert V, Bonnet D, Michel-Behnke I, Graham TP, Takahashi M, Jaggars J, Califf RM, Rakhit A, Fontecave S, Sanders SP. Clinical outcomes of palliative surgery including a systemic-to-pulmonary artery shunt in infants with cyanotic congenital heart disease: does aspirin make a difference? *Circulation*. 2007;116(3):293-7.
22. Biglino G, Giardini A, Hsia TY, Figliola R, Taylor AM, Schievano S, Group MC. Modeling single ventricle physiology: review of engineering tools to study first stage palliation of hypoplastic left heart syndrome. *Front Pediatr*. 2013;1:31.
23. Williams JA, Bansal AK, Kim BJ, Nwakanma LU, Patel ND, Seth AK, Alejo DE, Gott VL, Vricella LA, Baumgartner WA. Two thousand Blalock-Taussig shunts: a six-decade experience. *The Annals of thoracic surgery*. 2007;84(6):2070-5.
24. Wells WJ, Yu RJ, Batra AS, Monforte H, Sintek C, Starnes VA. Obstruction in modified Blalock shunts: a quantitative analysis with clinical correlation. *Ann Thorac Surg*. 2005;79(6):2072-6.
25. Azakie T, Merklinger SL, McCrindle BW, Van Arsdell GS, Lee KJ, Benson LN, Coles JG, Williams WG. Evolving strategies and improving outcomes of the modified norwood procedure: a 10-year single-institution experience. *Ann Thorac Surg*. 2001;72(4):1349-53.
26. Fenton KN, Siewers RD, Rebovich B, Pigula FA. Interim mortality in infants with systemic-to-pulmonary artery shunts. *Ann Thorac Surg*. 2003;76(1):152-6; discussion 6-7.
27. Motz R, Wessel A, Ruschewski W, Bursch J. Reduced frequency of occlusion of aorto-pulmonary shunts in infants receiving aspirin. *Cardiol Young*. 1999;9(5):474-7.
28. Li JS, Yow E, Berezny KY, Bokesch PM, Takahashi M, Graham T, Sanders SP, Sidi D, Bonnet D, Ewert P. Dosing of clopidogrel for platelet inhibition in infants and young children. *Circulation*. 2008;117(4):553-9.
29. Wessel DL, Berger F, Li JS, Dähnert I, Rakhit A, Fontecave S, Newburger JW. Clopidogrel in infants with systemic-to-pulmonary-artery shunts. *New England Journal of Medicine*. 2013;368(25):2377-84.
30. Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Ramirez C, Sabate M, Jimenez-Quevedo P, Hernandez R, Moreno R, Escaned J, Alfonso F, Banuelos C, Costa MA, Bass TA, Macaya C. Influence of aspirin resistance on platelet function profiles in patients on long-term aspirin and clopidogrel after percutaneous coronary intervention. *Am J Cardiol*. 2006;97(1):38-43.
31. Coakley M, Self R, Marchant W, Mackie I, Mallett SV, Mythen M. Use of the platelet function analyser (PFA-100) to quantify the effect of low dose aspirin in patients with ischaemic heart disease. *Anaesthesia*. 2005;60(12):1173-8.

32. Heistein LC, Scott WA, Zellers TM, Fixler DE, Ramaciotti C, Journeycake JM, Lemler MS. Aspirin resistance in children with heart disease at risk for thromboembolism: prevalence and possible mechanisms. *Pediatr Cardiol.* 2008;29(2):285-91.
33. Perry DJ, Fitzmaurice DA, Kitchen S, Mackie IJ, Mallett S. Point-of-care testing in haemostasis. *Br J Haematol.* 2010;150(5):501-14.
34. Duke W. The relation of blood platelets to hemorrhagic disease: description of a method for determining the bleeding time and coagulation time and report of three cases of hemorrhagic disease relieved by transfusion. *Journal of the American Medical Association.* 1910;55(14):1185-92.
35. Campbell J, Ridgway H, Carville D. Plateletworks: a novel point of care platelet function screen. *Mol Diagn Ther.* 2008;12(4):253-8.
36. Carroll RC, Craft RM, Chavez JJ, Snider CC, Bresee SJ, Cohen E. A Thrombelastograph whole blood assay for clinical monitoring of NSAID-insensitive transcellular platelet activation by arachidonic acid. *J Lab Clin Med.* 2005;146(1):30-5.
37. Luddington RJ. Thrombelastography/thromboelastometry. *Clin Lab Haematol.* 2005;27(2):81-90.
38. Smith JW, Steinhubl SR, Lincoff AM, Coleman JC, Lee TT, Hillman RS, Collier BS. Rapid platelet-function assay: an automated and quantitative cartridge-based method. *Circulation.* 1999;99(5):620-5.
39. Cardinal DC, Flower RJ. The electronic aggregometer: a novel device for assessing platelet behavior in blood. *J Pharmacol Methods.* 1980;3(2):135-58.
40. McGlasson DL, Fritsma GA. Whole blood platelet aggregometry and platelet function testing. *Semin Thromb Hemost.* 2009;35(2):168-80.
41. Ganser A. Physiologie der Thrombozyten. In: Barthels M, editor. *Das Gerinnungskompandium: Schnellorientierung, Befundinterpretation, klinische Konsequenzen*: Georg Thieme Verlag; 2012.
42. Pape H-C, Kurtz A, Silbernagl S. Kapitel 7.6 Blutstillung, Blutgerinnung und Wundheilung. *Physiologie*: Georg Thieme Verlag; 2019.
43. ROCHE. Produktkatalog Multiplate Analyser [Internet]. 2013 [cited 2019 July 19]. Available from: https://www.roche.de/res/content/7814/multiplate_produktkatalog2013.pdf.
44. DHZB. Arbeitsanweisung: AG-AL-129/E Multiplate. 2016.

45. Toth O, Calatzis A, Penz S, Losonczy H, Siess W. Multiple electrode aggregometry: a new device to measure platelet aggregation in whole blood. *Thromb Haemost.* 2006;96(6):781-8.
46. Halimeh S, Angelis G, Sander A, Edelbusch C, Rott H, Thedieck S, Mesters R, Schlegel N, Nowak-Gottl U. Multiplate whole blood impedance point of care aggregometry: preliminary reference values in healthy infants, children and adolescents. *Klin Padiatr.* 2010;222(3):158-63.
47. Sibbing D, Braun S, Jawansky S, Vogt W, Mehilli J, Schomig A, Kastrati A, von Beckerath N. Assessment of ADP-induced platelet aggregation with light transmission aggregometry and multiple electrode platelet aggregometry before and after clopidogrel treatment. *Thromb Haemost.* 2008;99(1):121-6.
48. Dyszkiewicz-Korpanty AM, Frenkel EP, Sarode R. Approach to the assessment of platelet function: comparison between optical-based platelet-rich plasma and impedance-based whole blood platelet aggregation methods. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2005;11(1):25-35.
49. Hofer A, Kozek-Langenecker S, Schaden E, Panholzer M, Gombotz H. Point-of-care assessment of platelet aggregation in paediatric open heart surgery. *Br J Anaesth.* 2011;107(4):587-92.
50. Romlin BS, Wahlander H, Stromvall-Larsson E, Synnergren M, Baghaei F, Jeppsson A. Monitoring of acetyl salicylic acid-induced platelet inhibition with impedance aggregometry in children with systemic-to-pulmonary shunts. *Cardiol Young.* 2013;23(2):225-32.
51. Born GV. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature.* 1962;194:927-9.
52. Paniccia R, Priora R, Liotta AA, Abbate R. Platelet function tests: a comparative review. *Vasc Health Risk Manag.* 2015;11:133-48.
53. DHZB. Arbeitsanweisung: AG-AL-108/I und AL-201/J LTA. 2016.
54. Cattaneo M, Cerletti C, Harrison P, Hayward CP, Kenny D, Nugent D, Nurden P, Rao AK, Schmaier AH, Watson SP, Lussana F, Pugliano MT, Michelson AD. Recommendations for the Standardization of Light Transmission Aggregometry: A Consensus of the Working Party from the Platelet Physiology Subcommittee of SSC/ISTH. *J Thromb Haemost.* 2013.
55. Yee DL, Dinu BR, Sun CW, Edwards RM, Justino H, Teruya J, Bray PF, Bomgaars L. Low prevalence and assay discordance of "aspirin resistance" in children. *Pediatr Blood Cancer.* 2008;51(1):86-92.

56. Sirachainan N, Wijarn P, Chuansumrit A, Kadegasem P, Wongwerawattanakoon P, Soisamrong A. Aspirin resistance in children and young adults with splenectomized thalassemia diseases. *Thromb Res.* 2015;135(5):916-22.
57. Schmutz M, Speer O, Kroiss S, Knirsch W, Kretschmar O, Rand ML, Albisetti M. Monitoring aspirin therapy in children after interventional cardiac catheterization: laboratory measures, dose response, and clinical outcomes. *Eur J Pediatr.* 2015;174(7):933-41.
58. Barthels M. Das Gerinnungskompandium: Schnellorientierung, Befundinterpretation, klinische Konsequenzen: Georg Thieme Verlag; 2012.
59. Engel MS, Kochilas LK. Pulse oximetry screening: a review of diagnosing critical congenital heart disease in newborns. *Med Devices (Auckl).* 2016;9:199-203.
60. Verdurmen KM, Eijvoogel NB, Lempersz C, Vullings R, Schroer C, van Laar JO, Oei SG. A systematic review of prenatal screening for congenital heart disease by fetal electrocardiography. *Int J Gynaecol Obstet.* 2016;135(2):129-34.
61. Ohye RG, Bove EL. Advances in congenital heart surgery. *Curr Opin Pediatr.* 2001;13(5):473-81.
62. Sizarov A, Boudjemline Y. Novel materials and devices in the transcatheter management of congenital heart diseases--the future comes slowly (part 1). *Arch Cardiovasc Dis.* 2016;109(4):278-85.
63. Cohen J. A Coefficient of Agreement for Nominal Scales. *Educational and Psychological Measurement.* 1960;20(1):37-46.
64. Landis JR, Koch GG. The Measurement of Observer Agreement for Categorical Data. *Biometrics.* 1977;33(1):159-74.
65. Weiß C. Basiswissen Medizinische Statistik: Springer; 2019.
66. Bühner M, Ziegler M. Statistik für Psychologen und Sozialwissenschaftler: Grundlagen und Umsetzung mit SPSS und R: Pearson Studium; 2017.
67. Al Ghaithi R, Drake S, Watson SP, Morgan NV, Harrison P. Comparison of multiple electrode aggregometry with lumi-aggregometry for the diagnosis of patients with mild bleeding disorders. *J Thromb Haemost.* 2017;15(10):2045-52.
68. Velik-Salchner C, Maier S, Innerhofer P, Streif W, Klingler A, Kolbitsch C, Fries D. Point-of-care whole blood impedance aggregometry versus classical light transmission aggregometry for detecting aspirin and clopidogrel: the results of a pilot study. *Anesth Analg.* 2008;107(6):1798-806.

69. Jennings LK, Michelson AD, Jacoski MV, Tyagi A, Grgurevich S, Li JS, Picolo I. Pharmacodynamic effects of clopidogrel in pediatric cardiac patients: a comparative study of platelet aggregation response. *Platelets*. 2012;23(6):430-8.
70. Roche. Multiplate Analyzer 2020 [cited 2020 June 24]. Available from: <https://www.roche.de/diagnostics/systeme/gerinnungsdiagnostik/multiplate-analyzer.html?sid=b0c3993bf4913578e5286afcd26a22e3#Merkmale>.
71. Emani S, Trainor B, Zurakowski D, Baird CW, Fynn-Thompson FE, Pigula FA, Emani SM. Aspirin unresponsiveness predicts thrombosis in high-risk pediatric patients after cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2014;148(3):810-4; discussion 4-6.
72. Rosenthal DN, Lancaster CA, McElhinney DB, Chen S, Stein M, Lin A, Doan L, Murray JM, Gowan MA, Maeda K, Reinhartz O, Almond CS. Impact of a modified anti-thrombotic guideline on stroke in children supported with a pediatric ventricular assist device. *J Heart Lung Transplant*. 2017;36(11):1250-7.
73. Cattaneo M. Resistance to antiplatelet drugs: molecular mechanisms and laboratory detection. *J Thromb Haemost*. 2007;5 Suppl 1:230-7.
74. Saini A, Joshi AD, Cowan KM, Wayne Gatewood C, Kumar STK, Allen J, Shah SH, Nouer SS, Jones T, Knott-Craig CJ, Boston US. High acetylsalicylic acid dosing in infants after modified Blalock-Taussig shunt. *Cardiol Young*. 2019;29(3):389-97.
75. Guzzetta NA, Foster GS, Mruthinti N, Kilgore PD, Miller BE, Kanter KR. In-hospital shunt occlusion in infants undergoing a modified blalock-taussig shunt. *Ann Thorac Surg*. 2013;96(1):176-82.
76. Manlihot C, Menjak IB, Brandao LR, Gruenwald CE, Schwartz SM, Sivarajan VB, Yoon H, Maratta R, Carew CL, McMullen JA, Clarizia NA, Holtby HM, Williams S, Caldarone CA, Van Arsdell GS, Chan AK, McCrindle BW. Risk, clinical features, and outcomes of thrombosis associated with pediatric cardiac surgery. *Circulation*. 2011;124(14):1511-9.
77. Cholette JM, Rubenstein JS, Alfieri GM, McDermott MP, Harmon WG, Vermilion R, Eaton MP, Gangemi JJ, Lerner NB. Elevated risk of thrombosis in neonates undergoing initial palliative cardiac surgery. *Ann Thorac Surg*. 2007;84(4):1320-5.
78. Alsoufi B, Gillespie S, Mori M, Clabby M, Kanter K, Kogon B. Factors affecting death and progression towards next stage following modified Blalock-Taussig shunt in neonates. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2016;50(1):169-77.
79. Bonding Andreasen J, Hvas AM, Ravn HB. Marked changes in platelet count and function following pediatric congenital heart surgery. *Paediatr Anaesth*. 2014;24(4):386-92.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Cornelius Forke, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Evaluation von Thrombozytenfunktionstests bei Kindern mit Shunt-abhängigem angeborenen Herzfehler“ – „Evaluation of Platelet Function Testing in Children with Systemic-to-Pulmonary-Artery Shunt due to congenital heart disease“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Danksagung

Ich danke den folgenden Personen, die mich in der Bearbeitung meiner Dissertation unterstützt haben:

Meinen Betreuerinnen Constanze Pfitzer und Katharina Schmitt für die vielen Anregungen, Diskussionen und Hilfestellungen, die maßgeblich zur Entstehung dieser Arbeit beigetragen haben.

Hannah Ferentzi und Paul Helm, die immer ein offenes Ohr für Fragen haben.

Meiner Familie, die mich immer unterstützt, sodass ich mich solchen Aufgaben widmen kann und mir stets mit Rat und Tat zu Seite steht.

Bescheinigung Statistik



CharitéCentrum für Human- und Gesundheitswissenschaften

Charité | Campus Charité Mitte | 10117 Berlin

Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie (iBiKE)

Direktor: Prof. Dr. Geraldine Rauch

Postanschrift:
Charitéplatz 1 | 10117 Berlin
Besucheranschrift:
Reinhardtstr. 58 | 10117 Berlin

Tel. +49 (0)30 450 562171
geraldine.rauch@charite.de
<https://biometrie.charite.de/>



Name, Vorname: Forke, Cornelius
Emailadresse: cornelius.forke@charite.de
Matrikelnummer: 221223
PromotionsbetreuerIn: PD Dr. Katharina Schmitt
Promotionsinstitution/ Klinik: CC17 Klinik für Pädiatrie m.S.
Kardiologie

Bescheinigung

Hiermit bescheinige ich, dass Herr Cornelius Forke innerhalb der Service Unit Biometrie des Instituts für Biometrie und klinische Epidemiologie (iBiKE) bei mir eine statistische Beratung zu einem Promotionsvorhaben wahrgenommen hat. Folgende Beratungstermine wurden wahrgenommen:

- Termin 1: 27.05.2019
- Termin 2: 07.07.2020
- Termin 3: 10.09.2020

Folgende wesentliche Ratschläge hinsichtlich einer sinnvollen Auswertung und Interpretation der Daten wurden während der Beratung erteilt:

- Definition des Endpunkts
- Testauswahl bei verbundenen und unverbundenen Stichproben
- Diskussion graphischer Darstellungen
- Cut-Off Value Definition im Rahmen von ROC-Kurven
- Voraussetzungen für Regressionsanalysen und Interpretation von Regressionskoeffizienten

Diese Bescheinigung garantiert nicht die richtige Umsetzung der in der Beratung gemachten Vorschläge, die korrekte Durchführung der empfohlenen statistischen Verfahren und die richtige Darstellung und Interpretation der Ergebnisse. Die Verantwortung hierfür obliegt allein dem Promovierenden. Das Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie übernimmt hierfür keine Haftung.

Datum: 10.09.2020

Name der Beraterin:


UNIVERSITÄTSMEDIZIN BERLIN
Institut für Biometrie und
klinische Epidemiologie
Campus Charité Mitte
Charitéplatz 1 | D-10117 Berlin
Stitz, Reinhardtstr. 58