

Diplomarbeit

**Evaluierung des hämostaseologischen Status bei
jugendlichen Patientinnen mit transvenösem
Herzschrittmacher**

eingereicht von

Raphaela Ashrafi Gandjeh

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktorin der gesamten Heilkunde
(Dr. med. univ.)**

an der

Medizinische Universität Graz

ausgeführt am

Universitätsklinikum für Kinder- und Jugendheilkunde

ausgeführt an der

Klinischen Abteilung für allgemeine Pädiatrie

unter der Anleitung von

Priv.-Doz. Mag.rer.nat. Dr.scient.med. Axel Schlagenhaut

Dr.med. univ. Dr.scient.med. Katharina Meinel

Graz, am 19.04.2023

Eidesstattliche Erklärung:

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 19.04.2023

Raphaela Ashrafi Gandjeh eh.

Danksagung

Ich möchte mich bei meinen Betreuern*innen bedanken, welche bestimmt die besten sind die man sich wünschen kann! Dr.med. univ. Dr.scient.med. Katharina Meinel die mit ihrer Motivation mein Interesse für das Thema entfacht hat und Priv.-Doz. Mag.rer.nat. Dr.scient.med.Axel Schlagenhaut, der mir mit seinem endlosen Wissen bei jedem Problem helfen konnte.

Ich möchte mich auch bei meiner Familie bedanken, die mich während dem Studium durchgehend unterstützt und vor allem ausgehalten hat. Meiner Mama ganz besonders, die mittlerweile wohl selbst schon einen Titel verdient hätte. Patrick für die mentale Unterstützung und Ablenkung. Und auch dir Daniel.

Außerdem möchte ich mich bei meinen Freunden bedanken, die das Studium zu einer unvergesslichen Zeit gemacht haben und ohne die ich es bestimmt nicht so genossen hätte.

Inhaltsverzeichnis

Eidesstattliche Erklärung	I
Danksagung	II
Inhaltsverzeichnis	III
Abkürzungen	VI
Abbildungsverzeichnis.....	VII
Tabellenverzeichnis.....	VIII
Zusammenfassung	IX
Abstract	XI
Abkürzungen	XIII
1 Einleitung	1
1.1 Physiologie der Hämostase	2
1.1.1 Primäre und sekundäre Hämostase.....	2
1.1.1.1 Primäre Hämostase	2
1.1.1.2 Sekundäre Hämostase.....	3
1.1.2 Plasmatische Hämostase.....	4
1.1.2.1 Kaskadenmodell.....	4
1.1.2.2 Zellbasiertes Modell	5
1.1.3 Inhibitoren der Hämostase	7
1.1.3.1 Antithrombin	7
1.1.3.2 Tissue Factor Pathway Inhibitor.....	8
1.1.3.3 Protein C/S.....	8
1.1.4 Hämostaseologische Tests	8
1.1.4.1 Platelet Function Assay.....	9
1.1.4.2 Thromboplastinzeit.....	9
1.1.4.3 Aktivierte partielle Thromboplastinzeit	9
1.1.4.4 Kalibrierte automatisierte Thrombographie	10
1.2 Der weibliche Menstruationszyklus.....	11
1.2.1 Weibliche Sexualhormone.....	12
1.2.1.1 Östrogene	12

1.2.1.2	Gestagene.....	13
1.2.1.3	Androgene.....	14
1.2.2	Orale Kontrazeptiva.....	14
1.2.2.1	Einteilung und Wirkweise der oralen Kontrazeption.....	14
1.2.2.1.1	Östrogen-Gestagen-Präparate	14
1.2.2.1.2	Die „Mini-Pille“	15
1.2.2.1.3	Die „Pille danach“	16
1.2.3	1995- Die „Pillenpanik“	16
1.2.4	Orale Kontrazeptiva und VTE-Risiko.....	17
1.2.5	Molekulare Einflussfaktoren oraler Kontrazeptiva auf die Blutgerinnung	18
1.2.6	Variierendes VTE-Risiko	19
1.3	Grundlagen der Herzschrittmachertherapie.....	20
1.3.1	Erregungsleitung des Herzens	20
1.3.2	Funktionsweise eines Herzschrittmachers	20
1.3.3	Schrittmacherkodierung	21
1.3.4	Schrittmachermodus	22
1.3.5	Schrittmacherindikation bei Kindern und Jugendlichen.....	23
1.3.6	Transvenöse Schrittmacherimplantation	24
1.3.7	Komplikationen.....	24
1.3.8	Potenzielle Einflussfaktoren auf das Thromboserisiko.....	24
1.3.8.1	Kontaktaktivierung/“lead thrombosis“	25
1.4	Begründung der Fragestellung	26
2	Material und Methoden	28
2.1	Studiendesign	28
2.2	Ein- und Ausschlusskriterien.....	28
2.2.1	Ein- und Ausschlusskriterien der Patientinnengruppe.....	28
2.2.2	Ein- und Ausschlusskriterien der Kontrollgruppe	29
2.3	Probengewinnung	30
2.4	Labormethoden.....	30
2.4.1	Messung der Thrombingeneration	30
2.4.2	Messung der Prothrombin Fragmente 1+2	32
2.4.3	Thromboplastinzeit	32

2.4.4	Aktivierte partielle Thromboplastinzeit.....	32
2.5	Statistische Analyse.....	32
3	Ergebnisse	34
3.1	Statistische Auswertung der Studienpopulation.....	34
3.2	Herzschrittmacherpatientinnen	35
3.3	Datenanalyse der Calibrated Automated Thrombogram Ergebnisse	35
3.4	Datenanalyse der Calibrated Automated Thrombogram Ergebnisse der Patientinnen ohne Schrittmacherwechsel.....	38
3.5	Datenanalyse der PFA-100 Ergebnisse.....	39
3.6	Datenanalyse der Prothrombinzeit.....	39
3.7	Datenanalyse der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit	40
3.8	Datenanalyse des Quick Werts.....	41
4	Diskussion.....	42
5	Literaturverzeichnis	47

Abkürzungen

vWF	Von-Willebrand-Faktor
PT	Thromboplastinzeit; Prothrombinzeit
aPTT	Aktivierte partielle Thromboplastinzeit
CAT	Calibrated Automated Thrombogram
TG	Thrombingeneration
ETP	Endogenes Thrombinpotential
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
LH	Luteinisierendes Hormon
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormon, Gonadoliberin
OC	Orale Kontrazeptiva
VTE	Venöse Thromboembolie
APC	Aktiviertes Protein C
CIED	Kardial implantierter Devices
INR	International Normalized Ratio
F1+F2	Prothrombin-Fragmente 1 und 2
KHK	Kombinierte hormonelle Kontrazeptiva
PMP	Progestin Monopräparate

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Primäre Hämostase	3
Abbildung 2 Sekundäre Hämostase	4
Abbildung 3 Thrombogramm.....	11
Abbildung 4 Flussdiagramm zum Ausschluss von Teilnehmern	34
Abbildung 5 Altersverteilung der Studienpopulation.....	35

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 VTE-Risiko kombinierter hormonaler Kontrazeptiva.....	18
Tabelle 2 Herzschrittmacherkodierung.....	22
Tabelle 3 Indikationen zur Herzschrittmachertherapie bei Kindern mit kongenitalen Herzerkrankungen.....	23
Tabelle 4 Ein- und Ausschlusskriterien der Patientinnengruppe.....	29
Tabelle 5 Ein- und Ausschlusskriterien der Kontrollgruppe.....	29

Zusammenfassung

Hintergrund: Die Anwendung oraler Kontrazeptiva (OC) wurde aufgrund der Wirkung von synthetischen Hormonen auf bestimmte Gerinnungsfaktoren mit einem erhöhten Thromboserisiko in Verbindung gebracht. Die Thrombingeneration (TG) bei Patientinnen, die OC einnehmen ist signifikant höher im Vergleich zu Patientinnen, die keine einnehmen. Einzelfallberichte deuteten darauf hin, dass Thrombosen eine mögliche Komplikation von kardial implantierten Devices darstellen. Dies führte zu Unsicherheiten bei der Wahl der Verhütungsmethode für Patientinnen mit Herzschrittmachern. In dieser Studie wurde untersucht ob bei jugendlichen, geschlechtsreifen Patientinnen mit Herzschrittmacher eine latente Voraktivierung der Gerinnung besteht, die gegen die Einnahme von OC spricht.

Methode: In dieser prospektiven Fall-Kontroll-Studie wurden Blutproben von weiblichen, geschlechtsreifen Patientinnen mit Herzschrittmacher im Alter von 14-30 Jahren untersucht (n=7). Die Kontrollgruppe bestand aus altersgematchten gesunden Probandinnen (n=7). Die Proben wurden an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde, sowie an der Abteilung für Innere Medizin der Medizinische Universität Graz gesammelt. Die Hauptzielgröße war die TG, welche mittels der kalibrierten automatisierten Thrombographie gemessen wurde. Zu den Nebenzielgrößen zählten die Thromboplastinzeit (PT), die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) und die Prothrombin-Fragmente 1 und 2 (F1+F2).

Ergebnisse: In der Auswertung der TG, zeigten sich bei den Patientinnen mit Herzschrittmacher Tendenzen zu einem höheren Peak, einer kürzeren Time to Peak und einem höherem Velocity Index. Diese Unterschiede waren jedoch nicht statistisch signifikant. In den Ergebnissen der F1+F2 und der PT wurde kein signifikanter Unterschied beobachtet. Die aPTT war in der Patientinnengruppe signifikant länger als in der Kontrollgruppe (P-Wert= 0,0024).

Diskussion: Es wurden minimale Unterschiede in der TG zwischen der Patientinnengruppe und der Kontrollgruppe festgestellt. Insbesondere der aussagekräftigste Parameter, das endogene Thrombinpotential (ETP) war zwischen den Gruppen vergleichbar. Zusammenfassend deuteten die Daten nicht

auf einen signifikanten prothrombotischen Zustand hin. Die Studie fand einen signifikanten Unterschied in der aPTT, wobei sich alle Messergebnisse im Referenzbereich befanden. Aufgrund der geringen Fallzahl und der uneindeutigen Datenlage der Studie kann keine abschließende Aussage über die Verwendung von kombinierten OC bei Patientinnen mit Herzschrittmacher getroffen werden. Die Messung der TG zur Bewertung der hämostaseologischen Balance könnte in Zukunft jedoch als Grundlage für personalisierte Entscheidungen dienen.

Abstract

Background: The use of oral contraceptives (OC) has been associated with an increased risk of thrombosis, because of synthetic hormones affecting clotting factors. Thrombin generation (TG) in patients taking OC is significantly higher compared to those who do not. Individual case reports suggested that thrombosis are a possible complication of cardiac implanted devices. This led to uncertainties in the choice of contraception for patients with pacemakers. This study aimed to investigate whether there is a latent pre-activation of coagulation in adolescent, sexually mature female patients with pacemakers that may contraindicate the use of OC.

Method: In this prospective case-control study, blood samples were collected from female sexually mature patients with pacemakers aged 14-30 years (n=7). The control group consisted of age-matched healthy subjects (n=7). Samples were collected at the Department of Pediatrics and Adolescent Medicine and the Department of Internal Medicine of the Medical University of Graz. The main outcome measure was TG, which was measured using the calibrated automated thrombography. Secondary outcome measurements included the thromboplastin time (PT), activated partial thromboplastin time (aPTT), and prothrombin fragments 1 and 2 (F1+F2).

Results: There were trends in the parameters of the TG curve towards a higher peak, shorter time to peak, and higher velocity index in the pacemaker group, which were not statistically significant. No significant difference was observed in the results of F1+F2 and PT. The aPTT was significantly longer in the patient group than in the control group (P-value= 0.0024).

Discussion: Only minimal differences in TG were observed between patients and controls. The most informative parameter, the endogenous thrombin potential (ETP), was comparable between the groups. In summary, the data did not suggest a significant prothrombotic state. A significant difference in aPTT was observed, but all measurement results were within the normal range. A limitation of the study was the small sample size. Due to this limitation and the ambiguous data, no definitive

statement can be made regarding the use of combined OC in patients with pacemakers. However, measuring TG to assess hemostatic balance could serve as a basis for personalized decision-making in the future.

Abkürzungen

vWF	Von-Willebrand-Faktor
PT	Thromboplastinzeit; Prothrombinzeit
aPPT	Aktivierte partielle Thromboplastinzeit
CAT	Calibrated Automated Thrombogram
TG	Thrombingeneration
ETP	Endogenes Thrombinpotential
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
LH	Luteinisierendes Hormon
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormon, Gonadoliberin
OC	Orale Kontrazeptiva
VTE	Venöse Thromboembolie
APC	Aktiviertes Protein C
CIED	Kardial implantierter Devices
INR	International Normalized Ratio
F1+F2	Prothrombin-Fragmente 1 und 2
KHK	Kombinierte hormonelle Kontrazeptiva
PMP	Progestin Monopräparate

1 Einleitung

Die Einnahme von OC ist mit Veränderungen des Plasmaspiegels von Gerinnungsfaktoren und deren Inhibitoren assoziiert(1). Dies führt zu einem 2- bis 6-fach erhöhten Thromboserisiko. Es liegen Studien vor, in denen eine signifikante Erhöhung der TG unter der Einnahme von OC im Vergleich zu Patientinnen ohne OC nachgewiesen wurde (2).

Thrombosen sind auch eine seltene, aber mögliche Komplikation aller kardial implantierter Devices (CIED) (3). Es gibt aktuell nur wenige Daten in Bezug auf Schrittmacher assoziierte Thrombosen im Zusammenhang mit der Einnahme von OCs. Es liegen lediglich vereinzelte Fallberichte vor, in denen das Vorkommen von Thrombosen bei Schrittmacherpatientinnen nach dem Therapiebeginn mit OCs dokumentiert wurde (4).

Daher ist nicht klar, ob die Einnahme von OC bei Schrittmacherpatientinnen kontraindiziert sein sollte. Um dieser Frage auf den Grund zu gehen, wurde in dieser Studie überprüft ob bei geschlechtsreifen Schrittmacherpatientinnen eine latente Voraktivierung der Gerinnung vorliegt.

Um dies zu überprüfen, wurde als Hauptzielgröße die TG verwendet, welche mit der kalibrierten automatisierten Thrombographie (CAT) gemessen wurde. Bei dieser Methode wird die Generierung von Thrombin über die Zeit gemessen. Sie ist ein sensitiver Parameter für das hämostaseologische Gleichgewicht zwischen pro- und antikoagulatorischen Zuständen der Hämostase (5).

Zusätzlich wurden die Parameter Prothrombin Fragment 1 und 2 (F1+2), Thromboplastinzeit (PT) und die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) gemessen.

Die Diplomarbeit beginnt mit einem Überblick über die Hämostase, gefolgt von deren Testung. Danach befasst sich die Arbeit mit dem weiblichen

Menstruationszyklus, sowie OCs und deren Einfluss auf die Hämostase. Die Einleitung endet mit einer Einführung in die Herzschrittmachertherapie.

1.1 Physiologie der Hämostase

Die Hämostase beschreibt einen lebenswichtigen Ablauf aus mehreren Schritten, der nach einer Gefäßverletzung einsetzt und zur Stillung der Blutung führt. Dies geschieht durch die Bildung eines Blutgerinnsels, welches auch Thrombus genannt wird. Das Gerinnsel dichtet die Verletzung des Gefäßes ab und stoppt somit den Blutverlust (6).

1.1.1 Primäre und sekundäre Hämostase

Die Vorgänge während der Entstehung eines Blutgerinnsels lassen sich schematisch in zwei Phasen unterteilen. In der primären Hämostase lagern sich Thrombozyten an die beschädigte Gefäßwand an, um eine erste Blutstillung zu erreichen. In der sekundären Hämostase entsteht durch Interaktion der plasmatischen Bestandteile des Gerinnungssystems Fibrin, welches das Blutgerinnsel stabilisiert (6).

1.1.1.1 Primäre Hämostase

Die primäre Hämostase beginnt nach einer Schädigung des Endothels (6,7). Dabei wird das subendotheliale Bindegewebe freigelegt, in diesem sich unter anderem Kollagen befindet (6,7). Im Blut zirkulierende Thrombozyten haben auf ihrer Oberfläche aktivierte Glykoproteinrezeptoren (GPIa/IIa), mit denen sie spezifisch an das freigelegte Kollagen binden können (6,7).

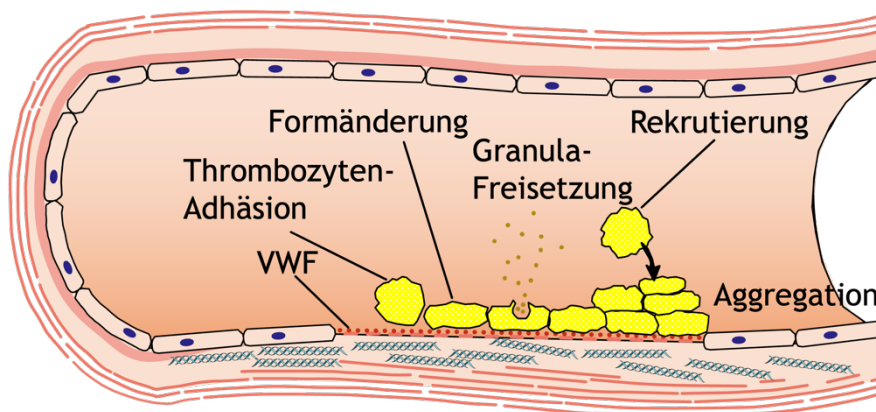
Aus dem verletzten Endothel wird von-Willebrand-Faktor (vWF) ins Blut freigesetzt, welcher sich ebenfalls spezifisch an Kollagen bindet. Dadurch wird eine zusätzliche Bindungsstelle am vWF frei, mit der dieser spezifisch, über einen weiteren Glykoproteinrezeptor (GPIb), Thrombozyten binden kann. Somit bindet der vWF vermehrt Thrombozyten an Kollagen (6,7).

Durch die Adhäsion der Thrombozyten, kommt es zu deren Aktivierung. Dabei verändern sie ihre Form und bilden Pseudopodien aus, mit denen sie beginnen, das verletzte Areal abzudichten (6,7). Zusätzlich werden negativ geladene Phospholipide aus dem Inneren der Thrombozyten nach außen gekehrt (7). Dieser Vorgang ist wichtig, da sich nun an der negativ geladenen Oberfläche der Thrombozyten viele weitere Schritte der Gerinnung abspielen können (6).

Darüber hinaus setzen die Thrombozyten Granula mit unterschiedlichen Mediatoren, wie Adenosindiphosphat (ADP), Serotonin und Thromboxan A₂, frei. Diese fördern das Rekrutieren und Vernetzen weiterer Thrombozyten und wirken vasokonstriktorisch (6). Es werden auch die Gerinnungsfaktoren VIII und V freigesetzt, welche für die sekundäre Hämostase wichtig sind (7). ADP ist für die Aktivierung eines Glykoproteinrezeptors (GP IIb/IIIa) an Thrombozyten verantwortlich, über den Fibrinogen gebunden wird. Dadurch werden die Thrombozyten untereinander vernetzt (6). Durch diese Prozesse wird ein primärer Wundverschluss, auch weißer Thrombus genannt, gebildet (6,7).

Abbildung 1 Primäre Hämostase

Ref.: zur Verfügung gestellt von Priv.-Doz. Mag. Dr. Axel Schlagenhaut



1.1.1.2 Sekundäre Hämostase

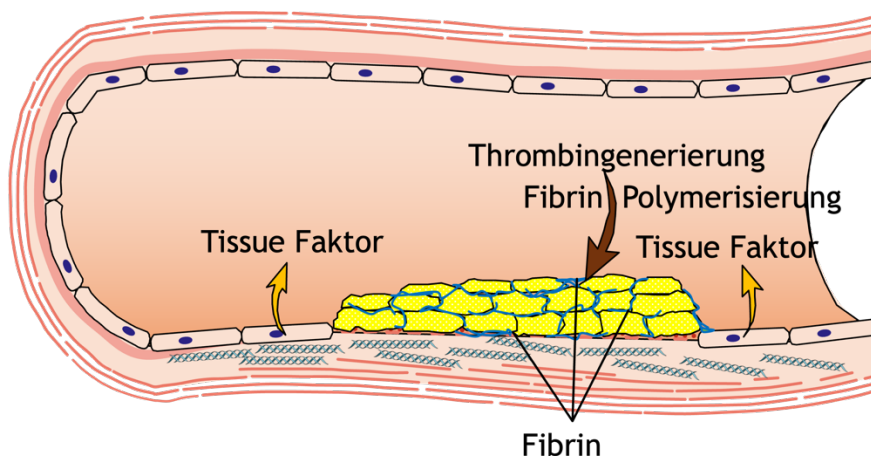
Das Ziel der sekundären Hämostase ist es, dem primären Thrombus mehr Stabilität zu verleihen. Sie verläuft parallel zur primären Hämostase (6). Im Blut zirkulierender Faktor VII, ein Plasmaprotein der Gerinnungskaskade, kommt an der Stelle des geschädigten Endothels in Kontakt mit dem sogenannten Gewebefaktor aus

subendothelialen Zellen und die beiden bilden gemeinsam den Aktivierungskomplex. Dieser Komplex leitet eine Reihe von Prozessen ein, welche als Gerinnungskaskade zusammengefasst werden.

Am Ende der Kaskade entsteht Thrombin, dessen wichtigste Aufgabe die Spaltung von Fibrinogen in Fibrin ist. Fibrin bindet an den GIIb/IIIa-Rezeptor der Thrombozyten und sorgt dadurch für deren Quervernetzung (6). Das Resultat ist ein stabilerer „roter Thrombus“, indem sich Blutzellen verfangen. Wobei sich auch rote Blutkörperchen im Thrombus verfangen und zu dem Namen „roter Thrombus“ führen (7).

Abbildung 2 Sekundäre Hämostase

Ref.: zur Verfügung gestellt von Priv.-Doz. Mag. Dr. Axel Schlagenhaut



1.1.2 Plasmatische Hämostase

Die plasmatische Gerinnung beschreibt die sekundäre Hämostase. Diese wird klassischerweise im Kaskadenmodell in zwei Wege unterteilt, die eine gemeinsame Endstrecke haben. Da dieses Modell jedoch die in vivo Verhältnisse nicht ausreichend beschreiben kann, entwickelte sich das neuere zellbasierte Modell.

1.1.2.1 Kaskadenmodell

Das Kaskadenmodell hat zwei Wege, den extrinsischen und den intrinsischen Weg, welche zu einer gemeinsamen Endstrecke führen.

Zu Beginn des extrinsischen Wegs, wird durch die Gewebsverletzung der Gewebefaktor, auch als Faktor III, Tissue Faktor oder Gewebsthrombokinase bezeichnet, frei. Dieser kommt in Kontakt mit Faktor VII, wodurch dieser zu Faktor VIIa aktiviert wird. Die jeweilige aktivierte Form der Gerinnungsfaktoren wird immer mit einem „a“ im Anschluss an die römische Ziffer gekennzeichnet (6,8). Der Gewebefaktor und Faktor VIIa bilden, zusammen mit den Cofaktoren Kalzium und Phospholipiden einen Komplex, der extrinsische Tenase genannt wird (9). Gewebefaktor und Faktor VIIa benötigen Kalzium, um an die negativ geladenen Phospholipide der Thrombozyten zu binden (7).

Beim intrinsischen Weg wird im Blut zirkulierender Faktor VII durch Kontakt mit negativen Phospholipiden oder subendotheliale Kollagen, zu Faktor VIIa aktiviert. Dieser wiederum aktiviert Faktor XI. Faktor XIa löst die Aktivierung von Faktor IX aus. Faktor IXa bildet einen Komplex mit dem in der primären Hämostase freigesetztem Faktor VIII und den Cofaktoren Kalzium und Phospholipiden. Dieser Komplex wird intrinsische Tenase genannt (8).

Ab diesem Punkt treffen sich die beiden Wege wieder und haben eine gemeinsame Endstrecke. Die Tenase Komplexe aktivieren den Faktor X. Faktor Xa bildet einen Komplex mit dem ebenfalls in der primären Hämostase freigesetztem Faktor V, mit den Cofaktoren Kalzium und Phospholipiden. Dieser Komplex wird Prothrombinase genannt. Die Prothrombinase führt zur Umwandlung von Prothrombin, auch als Faktor II bezeichnet, in Thrombin (8). Thrombin hat die Aufgaben Fibrinogen zu Fibrin umzuwandeln und die Faktoren XIII, V, XI und VIII zu aktivieren. Faktor XIIIa sorgt für die Quervernetzung der Fibrinmoleküle und schafft somit einen stabileren Thrombus (7).

1.1.2.2 Zellbasiertes Modell

In diesem Modell wird die sekundäre Hämostase in drei Phasen eingeteilt. Sie beginnt mit der Initialphase, in der Gewebefaktor aus geschädigtem Gewebe in Kontakt mit Faktor VIIa kommt und mit Kalzium und Phospholipiden einen Komplex bilden. Der Komplex führt zur Aktivierung von Faktor X. Dieser bildet mit Faktor Va,

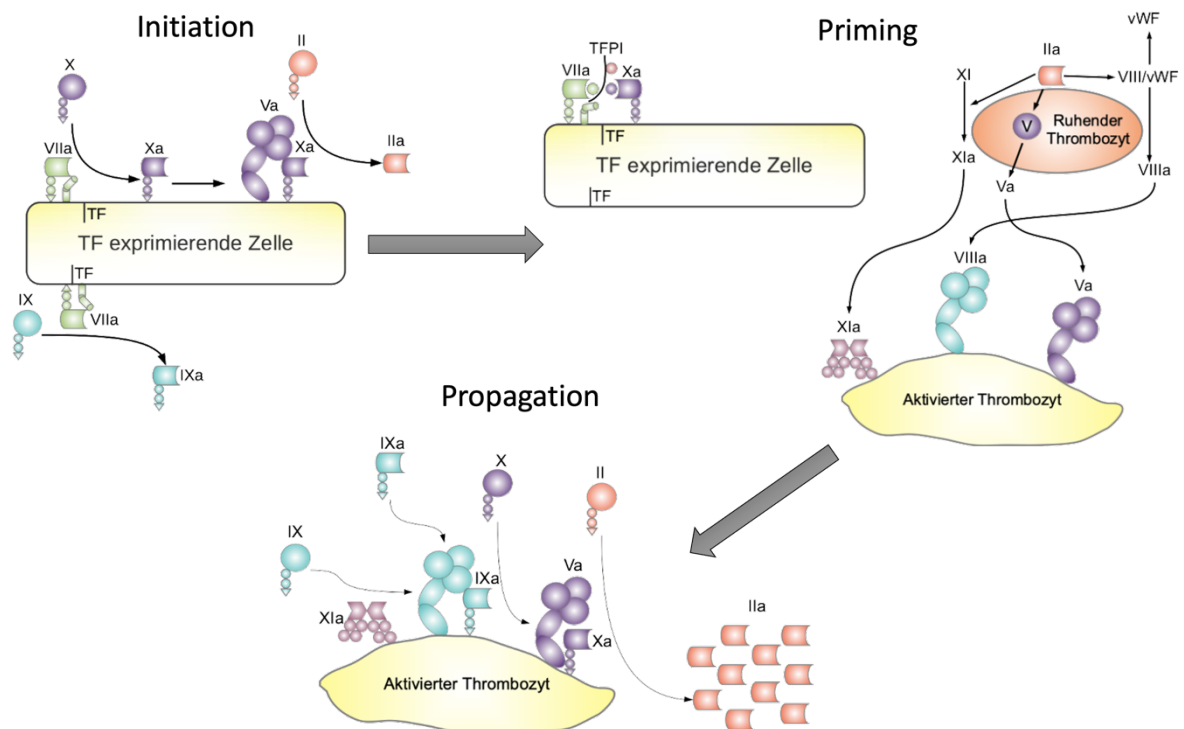
Kalzium und Phospholipiden den Prothrombinase Komplex. Dieser aktiviert nun den Faktor II, Prothrombin, zu Faktor IIa, Thrombin. In dieser Phase entstehen nur kleine Mengen Thrombin. Mit der Thrombinbildung ist die erste Phase abgeschlossen und die Amplifikationsphase wird eingeleitet (10).

In dieser Phase aktiviert Thrombin die Faktoren V, VIII XI und XIII. Faktor V, VIII und XI haben einen verstärkenden Effekt auf die Kaskade. Faktor VIII und IX sind wichtig für eine verstärkende Wirkung auf Faktor X. Dadurch kann das zellbasierte Modell auch die Wichtigkeit von Faktor VIII und IX besser darstellen. Thrombin führt auch zur Thrombozytenaktivierung, wodurch diese wiederum ihre Form verändern, und Mediatoren freisetzen (10).

Am Ende der Amplifikationsphase stehen viele weitere aktive Komplexe auf der Thrombozytenoberfläche bereit, die in der Propagationssphase eine große Menge Thrombin aktivieren können (10).

Parallel zu allen Phasen entsteht durch die Wirkung des Prothrombinase Komplex eine große Menge Thrombin. Dieser Vorgang wird Thrombin-Burst genannt. Somit wird genug Thrombin gebildet, um einen stabilen Thrombus zu bilden (10).

Abbildung 3 Schematische Darstellung der drei Phasen im zellbasierten Modell der Hämostase.
 Ref.: zur Verfügung gestellt von Priv.-Doz. Mag. Dr. Axel Schlagenhaut



1.1.3 Inhibitoren der Hämostase

Das Gerinnungssystem befindet sich unter physiologischen Bedingungen in einer fein abgestimmten Balance, in der bei funktioneller Blutstillung keine Thrombosen entstehen, da die positiven Rückkopplungsprozesse der Hämostase durch inhibitorische Mechanismen gegenreguliert werden.

1.1.3.1 Antithrombin

Antithrombin ist ein dominanter physiologischer Gerinnungshemmer während der Propagationsphase, der hauptsächlich in der Leber synthetisiert wird und sich über die Blutbahn im Körper verteilt. Antithrombin kann mit Thrombin und den Gerinnungsfaktoren IXa, Xa, XIa, XIIa, welche von aktivierten Thrombozyten und der endothelialen Zellschicht produziert werden Komplexe bilden. Dadurch werden diese inaktiviert. In Kombination mit Heparin kann die Funktion des Antithrombins um das bis zu 1000-fache gesteigert werden (7).

1.1.3.2 Tissue Factor Pathway Inhibitor

Der Gewebefaktor Inhibitor (Tissue Factor Pathway Inhibitor (TFPI)) wird vermutlich Großteils aus mikrovaskulärem Endothel bereitgestellt. Er bindet an den Faktor Xa und den Komplex aus Faktor VIIa mit dem Gewebefaktor und führt zu deren Hemmung. TFPI unterbricht die TG während der Initiationsphase, weshalb zusätzliches Thrombin in der Propagationsphase unabhängig von Tissue Faktor generiert werden kann (11).

1.1.3.3 Protein C/S

Protein C wird durch die Bindung von Thrombin an den Endothelzellrezeptor Thrombomodulin aktiviert, wodurch Aktiviertes Protein C (APC) an den Endothelzellen entsteht (12). Frei im Plasma zirkulierendes Protein S, Phospholipide und Kalzium dienen APC als Cofaktoren, bei der Spaltung und somit der Inaktivierung der Gerinnungsfaktoren Va und VIIIa (6). In Folge führt dieser Vorgang zu einer Hemmung der TG. Bei Defekten der Proteine C oder S, kommt es zu einer überschießenden TG und Thromboembolien werden begünstigt (6). Protein S verstärkt die Spaltung von Faktor VIIa (7). Protein S wirkt auch als Cofaktor des Tissue Factor Pathway Inhibitors bei der Inhibierung des Tenase und Prothrombinase Komplexes. Auch diese Vorgänge führen zur Hemmung der TG (8)

1.1.4 Hämostaseologische Tests

Grundsätzlich wird in der Gerinnung unterschieden zwischen Globaltests, mit denen der hämostaseologische Status in seiner Gesamtheit ermittelt wird, und Spezialtests, in denen die Funktion oder der Spiegel einzelner Faktoren bzw. Inhibitoren bestimmt wird. Bei den unten beschriebenen Assays handelt es sich ausschließlich um Globaltests.

1.1.4.1 Platelet Function Assay

Der Platelet Function Analyzer (PFA) ist ein Test der primären Hämostase. Citratblut wird in einer kollagenbeschichteten Messzelle, in Gegenwart der Agonisten ADP oder Epinephrin, einer Scherkraft ausgesetzt. Dadurch werden die Thrombozyten dazu stimuliert zu aggregieren und es bildet sich ein Thrombus. Die Zeit vom Start der Stimulation bis zum Verschluss durch den Thrombus wird gemessen. Dadurch wird die primäre Hämostase simuliert. Der PFA-100 ist eine einfach anzuwendende Methode, die sensitiv für Thrombozytenfunktionsstörungen, Thrombozytenaggregationshemmer und das von Willebrand Syndrom ist. Der Test ist jedoch nicht spezifisch oder prädiktiv (8).

1.1.4.2 Thromboplastinzeit

Die Bestimmung der PT, dient der Überprüfung der extrinsischen Gerinnung. Einer Blutplasmaprobe wird Gewebefaktor, Kalzium und Phospholipide zugefügt. Danach wird die Zeit gemessen, nach der sich Fibrinpolymere gebildet haben. Diese Zeit ist abhängig von den Faktoren II, V, VII und X (7). Besteht ein Mangel eines Gerinnungsfaktors ist der gemessene PT-Wert erniedrigt. Als Cofaktor der Gerinnungsfaktoren II, VII und X, führt auch ein Vitamin K Mangel zu einer Erniedrigung der PT-Zeit. Die PT wird auch zur Kontrolle bei einer Vitamin K Antagonisten Therapie angewandt (6).

1.1.4.3 Aktivierte partielle Thromboplastinzeit

Mit der aPTT wird die intrinsische Gerinnung bestimmt. Der Blutplasmaprobe wird eine negativ geladene Oberfläche, Kalzium und Phospholipide zugefügt. Der Unterschied zur PT liegt in der fehlenden Zugabe von Tissue Faktor bei der aPTT. Auch hier wird die Zeit bis zur Ausbildung von Fibrinpolymeren gemessen (7). Die aPTT erfasst Störungen der Faktoren VIII, IX, XI und XII. Sie dient unter anderem dem Monitoring einer Therapie mit unfraktioniertem Heparin, welches die Wirkung von Antithrombin steigert und der Identifikation einer Hämophilie (6).

1.1.4.4 Kalibrierte automatisierte Thrombographie

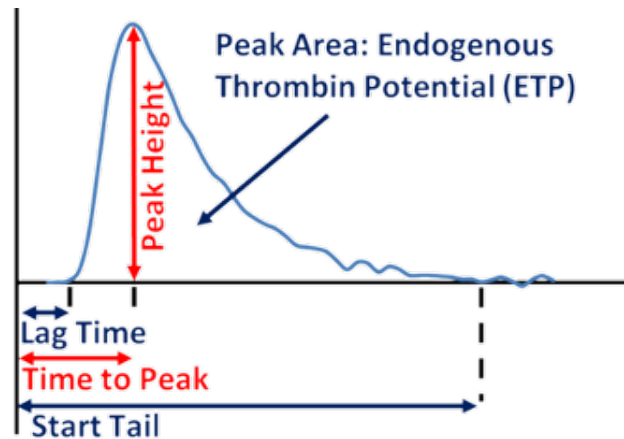
Thrombin ist ein Schlüsselenzym der plasmatischen Gerinnung. Seine Bildung entsteht durch das Zusammenwirken verschiedener Gerinnungsfaktoren (siehe Kapitel 1.1.2 Plasmatische Hämostase). Dadurch bietet sich die Messung der TG als sensitiver gerinnselunabhängiger Parameter an, um das hämostaseologische Gleichgewicht zwischen prokoagulativen und inhibitorischen Faktoren zu evaluieren (13).

Die Generierung von Thrombin über die Zeit kann mit Hilfe der kalibrierten automatisierten Thrombographie (CAT) ermittelt werden (5). Bei diesem in-vitro Assay wird die TG im Patientenplasma mittels Zugabe von Tissue Faktor und Kalzium getriggert und das generierte Thrombin wird über ein fluorogenes Substrat detektiert. Gleichzeitig findet ein kontinuierlicher Vergleich mit einem Kalibrator statt, welcher das Fluoreszenzsignal einer konstanten Menge Thrombin im Patientenplasma über die Zeit darstellt (5).

Die Konzentration des generierten Thrombins im PatientInnenplasma wird über die Zeit in einem Thrombogramm dargestellt. Dieses besteht aus der *Lag Time*, welche die Zeit bis zum Start der Gerinnung angibt. Weiters aus der *Area under the Curve*, die das endogene Thrombinpotential darstellt. Aus der *Time to Peak*, der Zeit, bis das Maximum an Thrombinproduktion erreicht wird und der *Peak Height*, dem Maximum an Thrombin Produktion pro Zeiteinheit. Der *Start Tail* gibt die Zeit vom Beginn der Initiation, bis zum Ende der Thrombinproduktion an. Der *Velocity Index* errechnet sich aus der Formel: $\text{Peak Height} / (\text{Time to Peak} - \text{Lag Time})$. Der CAT-Assay kann zur Messung von hyper-, sowie von hypokoagulatorischem Blut verwendet werden (5). Die TG ist bei hyperkoagulatorischen Zuständen erhöht. Das Thrombogramm kann somit verwendet werden, um die prothrombotische Wirkung von OC zu messen (13).

Abbildung 4 Thrombogramm

Ref.: zur Verfügung gestellt von Priv.-Doz. Mag. Dr. Axel Schlagenhaut



1.2 Der weibliche Menstruationszyklus

Der weibliche Menstruationszyklus wird durch das enge Zusammenspiel von Hypothalamus, Hypophyse und Ovar gesteuert. Aus dem Hypothalamus wird ab der Pubertät Gonadotropin Releasing Hormon (GnRH) pulsatil freigesetzt. Durch die hypothalamische Stimulation wird die Adenohypophyse zur Bildung und Freisetzung des Follikelstimulierenden Hormons (FSH) und des luteinisierenden Hormons (LH) angeregt, die zusammengefasst Gonadotropine genannt werden (14).

In der ersten Hälfte des Menstruationszyklus, der Follikelphase, stimuliert FSH im Ovar direkt die Follikelreifung und indirekt, durch die Reifung der Follikel, die ovarielle Östrogenbiosynthese (7). In der frühen Follikelphase kommt es Östrogenabhängig zur Reifung der Eizelle (14). Östrogen bewirkt in der ersten Zyklushälfte auch die Proliferation des Endometriums, wodurch sich die Eizelle darin Einnisten kann. Zusätzlich kommt es zu einer Veränderung des Zervixschleims, dessen Menge zunimmt und Viskosität sich verringert. Außerdem kommt es zur Öffnung des Muttermundes. Durch die Veränderungen an Zervixschleim und Muttermund wird das Eindringen der Spermien erleichtert (7).

Die initial niedrige Östrogenkonzentration wirkt negativ rückkoppelnd auf die Freisetzung der Gonadotropine, sodass das gebildete FSH lediglich für jenen Follikel ausreicht, der die meisten FSH-Rezeptoren exprimiert (sog. Graaf-Follikel).

Der im Verlauf steigende Östrogenspiegel führt schließlich zum Umschlagen der negativen in eine positive Rückkopplung, was zu einem massiven Anstieg der FSH- und LH-Konzentrationen führt. LH-abhängig werden nun auch Androgene freigesetzt, die u.a. zu Östrogenen umgewandelt werden. In der späten Follikelphase ist die LH-Konzentration am höchsten, wodurch die Ovulation induziert wird. Somit wird die erste Zyklushälfte abgeschlossen (14).

Die Lutealphase beschreibt die zweite Hälfte des Zyklus, in welcher die Eizelle befruchtet werden kann. Hier kommt es auch zur Umwandlung des gesprungenen Follikels in das Corpus rubrum und anschließend in das Corpus luteum (sog. Gelbkörper). Der Gelbkörper produziert Progesteron. Durch dessen Wirkung kommt es wieder zum Verschluss des Muttermundes und zur verminderten Menge und erhöhten Viskosität des Zervixschleims (15). Es bildet sich ein Schleimpfropf der das Eintreten von Spermien verhindert (7). Es kommt zu einer Umwandlung des Endometriums und zur Einlagerung von Glykogen und Fett. Durch diese Einflüsse werden ideale Bedingungen für die Einnistung einer befruchteten Eizelle und eine folgende Schwangerschaft geschaffen (7).

Bleibt die Befruchtung der Eizelle aus, führen die aus dem Corpus luteum freigesetzten niedrigen Östrogen- und hohen Progesteron-Spiegel zur Hemmung der FSH- und LH-Ausschüttung, was zum Untergang des Gelbkörpers und zur Menstruationsblutung führt (6).

1.2.1 Weibliche Sexualhormone

1.2.1.1 Östrogene

Östrogen ist ein Überbegriff für ungefähr 30 verschiedene Hormone. Die drei wichtigsten Vertreter sind Östradiol, Östron und Östriol (8). Der Hauptbildungsort der Östrogene ist das Ovar, wo überwiegend Östradiol und Östron gebildet wird. Östriol hingegen, ist ein Zwischenprodukt des Östrogenabbaus, das in der Leber gebildet wird. Auch in Fettgewebe, sowie Leber, Skelettmuskulatur, ZNS und Knochen können in geringerem Ausmaß Östrogene produziert werden (16).

Östradiol ist das am stärksten wirksamste Östrogen. Seine Funktion ist die Ausreifung der weiblichen sekundären Geschlechtsmerkmale in der Pubertät und die Proliferation des Endometriums in der ersten Zyklushälfte (6). Während der Schwangerschaft nimmt hingegen die Bedeutung von Östriol zu, welches in der Plazenta gebildet wird und nur schwach wirksam ist (7). Nach der Menopause stoppt die ovarielle Östrogenbiosynthese und es wird nur mehr in den restlichen Organen und im Fettgewebe in geringen Mengen Östrogen, vorwiegend Östron, produziert (16).

Östrogene wirken auch extragenital. Sie erhöhen die Knochenmineralisierung, indem sie die Lebensdauer von Osteozyten verlängern und Osteoklasten indirekt hemmen. Östrogene beeinflussen außerdem die Bildung von Gerinnungsfaktoren in der Leber. Wohingegen die Bildung von Faktor II, VII, IX und XII unter dem Einfluss von Östrogenen zunimmt, wird die von Protein C und S, sowie Antithrombin III gehemmt. Auch der Wasser- und der Elektrolythaushalt werden von Östrogenen beeinflusst (16). Sie bewirken extrazelluläre Natrium und Wasserretention, wodurch sie Ödeme und folglich eine Gewichtszunahme verursachen können (6). Im Lipidstoffwechsel führt das Hormon zu einem günstigerem HDL: LDL-Verhältnis (16).

1.2.1.2 Gestagene

Gestagene werden auch Gelbkörperhormone genannt. Zu den natürlichen vorkommenden Gestagenen zählen 20- α -Hydroxyprogesteron, 17- α -Hydroxyprogesteron und der wichtigste Vertreter Progesteron. Gestagene sind für die typischen Veränderungen in der zweiten Zyklushälfte (siehe Kapitel 1.2, Der weibliche Zyklus), die Menstruationsblutung, sowie die Aufrechterhaltung einer

Schwangerschaft verantwortlich. Zu den extragenitalen Wirkungen von Gestagen zählt unter anderem die Erhöhung der Körpertemperatur ($\sim 0,5^{\circ}\text{C}$) (7).

1.2.1.3 Androgene

Zu den Androgenen zählen Testosteron und Dihydrotestosteron. Testosteron wirkt direkt fördernd auf die Erythropoese, sowie das Knochenwachstum. Durch eine Umwandlung von Testosteron in Östradiol, wird in der Pubertät der Epiphysenschluss induziert (16). Androgene werden LH-abhängig freigesetzt und dienen im weiblichen Menstruationszyklus als Vorstufe für die Östrogenbiosynthese (17).

1.2.2 Orale Kontrazeptiva

1.2.2.1 Einteilung und Wirkweise der oralen Kontrazeption

1.2.2.1.1 Östrogen-Gestagen-Präparate

Die Östrogen-Gestagen-Kombinationspräparate können in Einphasen- und Mehrphasenpräparate unterteilt werden, wobei die Einphasenpräparate weiter in Ein-, Zwei- und Dreistufenpräparate eingeteilt werden (18). Bei Einphasenpräparaten bleibt die Dosis der verabreichten Hormone während des gesamten Zyklus konstant. Im Gegensatz dazu beinhalten Zweiphasenpräparate während der ersten Zyklushälfte nur Östrogen und in der Zweiten zusätzlich Gestagen (18). Bei Dreistufenpräparaten kommt es zu einer dreimaligen Erhöhung der Gestagendosis innerhalb eines Zyklus, wobei es, je nach Präparat, teilweise auch zu einer Steigerung der Östrogendosis kommt (14,18).

Die Wirkung der verschiedenen Östrogen-Gestagen Pillen beruht auf der Hemmung von GnRH und somit der Gonadotropine, wodurch die Ovulation ausbleibt. Hierdurch kommt es zu keiner Umwandlung des Endometriums und folglich zum Ausbleiben der Einnistung der Eizelle. Der Zervixschleim wird ebenfalls beeinflusst, indem seine Menge verringert und die Viskosität erhöht wird, wodurch ein ungünstigeres Milieu zur Aszension von Spermien geschaffen wird. Die

Tubenfunktion wird verringert. Die Gestagen Komponente der Pille ist hauptverantwortlich für die Kontrazeption, hingegen sorgt die Östrogenkomponente für eine Stabilität des Zyklus und verhindert Zwischenblutungen (18).

Da natürliche Östrogene einen hohen First-Pass Effekt haben, werden sie für die Pille synthetisch hergestellt. Vor allem Ethinylestradiol und Mestranol, welches in der Leber ebenfalls zu Ethinylestradiol umgewandelt wird, werden verwendet (16).

Auch Progesteron hat einen hohen First-Pass Effekt, weshalb für OC synthetische Gestagene verwendet werden. Synthetische Gestagene können in Präparate der ersten, zweiten, dritten oder vierten Generation eingeteilt werden, wobei sich die Einteilung auf den Zeitpunkt ihrer Einführung in den Handel bezieht. Eine zweite Variante ist die Einteilung nach ihrer Struktur. Dabei werden drei Gruppen unterschieden: Pregnane (Derivate des Progesterons), Estrane und Gonane (beides Testosteronderivate). Zusätzlich gibt es das dem Spironolacton strukturell ähnelnde Drospirenon, welches in keine der drei Gruppen fällt. Zu den Estranen gehören Norethindron, Norethindron acetate, Ethinydiol diacetat, Norethynodrel. Zu den Gonanen zählen Levonorgestrel, Desogestrel, Norgestimat, Gestodene. Vertreter der Gruppe der Pregnane sind Medroxyprogesteron acetat und Nomegestrol acetat (19)

1.2.2.1.2 Die „Mini-Pille“

Die Mini-Pille ist ein reines Gestagenpräparat. Diese Kontrazeptionsmethode basiert auf der negativen Wirkung des Gestagens auf Tubenmotilität, Endometriumrezeptivität und des Zervixschleims. Zusätzlich kommt es zur Hemmung der Gonadotropinfreisetzung. Die Östrogenspiegel schwanken allerdings während des Menstruationszyklus und es kommt nicht zur Ovulationshemmung. Aus diesem Grund ist bei der Einnahme des Monopräparates eine genaue zeitliche Einnahme wichtig. Außerdem sind Zwischenblutungen unter reinen Gestagenpräparaten häufiger. Die Mini-Pille stellt bei Indikationen wie Thrombophilie, Hämostasestörungen und etwaigen anderen internistischen Erkrankungen, sowie während der Stillperiode, eine Alternative zu Östrogen-Gestagen Präparaten dar (18).

1.2.2.1.3 Die „Pille danach“

Die „Pille danach“ ist eine Methode zur postkoitalen Kontrazeption. Es gibt Monopräparate, bei denen eine zweimalige 750 µg Dosis Levonorgestrel in einem 12 Stunden Abstand eingenommen wird, oder eine einmalige 1,5 mg Dosis. Es gibt die Möglichkeit zusätzlich präovulatorisch einen präferenziellen COX-2 Hemmer einzunehmen, um die Effektivität der Gestagenpräparate zu erhöhen.

Alternativ gibt es auch eine Kombinationspille, welche 500 µg Levonorgestrel und 100 µg Ethinylöstradiol enthält. Dieses Präparat kann bis zu 72 Stunden postkoital eingenommen werden.

Eine neuere Variante ist die Gabe von 30 mg eines selektiven Progesteronrezeptormodulators, mit dem Vorteil einer Einsatzmöglichkeit bis zu 120 Stunden postkoital.

Alle Möglichkeiten der „Pille danach“ bieten jedoch keinen 100%-igen Schutz und ihre Wirksamkeit sinkt mit dem zeitlichen Abstand der Einnahme nach dem Koitus. Die genaue Wirkweise der „Pille danach“ ist unklar. Es wird angenommen, dass die Wirkung auf eine verminderte Tubenfunktion und negative Beeinflussung der Einnistung ins Endometrium zurückzuführen ist (18).

1.2.3 1995- Die „Pillenpanik“

Im Oktober 1995, wurde vom UK Committee on Safety of Medicines eine Warnung herausgebracht, in der publiziert wurde, dass bei der Einnahme von OC, welche als Wirkstoff Gestodene oder Desogestrel (=2.Generation) beinhalten, ein zweifach erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer venösen Thromboembolie (VTE), im Vergleich zu anderen Progesteron-Derivaten, bestünde (20). Diese Meldung verursachte große Sorge bei den Konsumentinnen dieser Pillensorten, was dazu führte, dass diese vermehrt die Pillensorte wechselten bzw. eine andere Art der Verhütung wählten. Dies hatte zur Folge, dass im Jahr nach der Meldung die Rate

an Schwangerschaften und Abtreibungen Anstieg, am signifikantesten bei Minderjährigen (21).

Es konnte in der besagten Studie ein erhöhtes relatives Risiko nachgewiesen werden, eine VTE unter der Einnahme von OC mit Gestodene oder Desogestrel, im Vergleich zur Einnahme anderer Progesteronarten zu erleiden. Jedoch wurde in dem Artikel nicht klar genug dargestellt, dass das absolute Risiko, also das Risiko unter OC Einnahme im Vergleich zur Normalbevölkerung, nur minimal erhöht war. Das Risiko eine VTE unter Einnahme von OC zu erleiden ist im Vergleich sogar niedriger als während einer Schwangerschaft (21). Nach der „Pillenpanik“ wurden weitere epidemiologische Daten analysiert, wobei kein erhöhtes absolutes Risiko an einer VTE zu erleiden aufgrund der Einnahme von OCs der 3. Generation (Desogestrel, Gestodene oder Norgestimat) nachgewiesen werden konnte (20).

Die Pillenpanik hatte somit viele ungewollte Folgen. Unter anderem auf den mentalen Zustand von Frauen infolge einer ungewünschten Schwangerschaft oder einer Abtreibung, deren sozioökonomischen und nicht zuletzt auch den physischen Zustand, wenn die Folgen und Komplikationen einer Schwangerschaft oder Abtreibung miteinbezogen werden (21).

1.2.4 Orale Kontrazeptiva und VTE-Risiko

Bei der Einnahme von OC konnte ein 2- bis 6-fach erhöhtes Risiko eine VTE zu erleiden festgestellt werden. Dieses Risiko ist im ersten Jahr der Einnahme am höchsten, korreliert aber auch mit anderen Faktoren. Das absolute Risiko liegt je nach Studie zwischen 2-3/1000.000 pro Personen, welche eine OC einnehmen, im Vergleich zu 0,8/100.000, die keine OC einnehmen (1).

Die Gestagene Levonorgestrel, Norethisteron und Norgestimat, weisen aktuell das geringste Thromboserisiko auf (22). In Tabelle 5 ist das relative Risiko einer VTE für unterschiedliche Gestagene im Vergleich zu Levonorgestrel dargestellt.

Tabelle 1 VTE-Risiko kombinierter hormonaler Kontrazeptiva (KHK) (22)

Gestagen, welches im KHK enthalten ist (kombiniert mit Ethinylestradiol, sofern nicht anders angegeben)	Relatives Risiko im Vergleich zu Levonorgestrel	Geschätzte Inzidenz (pro 10 000 Frauen und Anwendungsjahr)
Nichtschwangere Nichtanwenderinnen	-	2
Levonorgestrel	Referenz	5–7
Norgestimat/Norethisteron	1,0	5–7
Gestoden/Desogestrel/Drospirenon	1,5–2,0	9–12
Etonogestrel/Norelgestromin	1,0–2,0	6–12
Chlormadinonacetat/Dienogest /Nomegestrolacetat (E2)	Noch zu bestätigen ¹	Noch zu bestätigen ¹
E2: Estradiol		
¹ Um aussagekräftige Daten für das Risiko dieser Präparate erheben zu können, werden weitere Studien durchgeführt oder sind geplant.		

1.2.5 Molekulare Einflussfaktoren oraler Kontrazeptiva auf die Blutgerinnung

Das erhöhte Risiko unter der Einnahme von OC eine VTE zu erleiden, hängt mit dem Einfluss der synthetischen Östrogene und Gestagene auf den hämostaseologischen Status zusammen.

Die wichtigsten Einflussfaktoren sind die Erhöhung der Plasmaspiegel der Gerinnungsfaktoren VII, VIII, X, XII und XIII, welche prokoagulatorisch wirken und die verminderten Plasmaspiegel an Protein S und Antithrombin, welche antikoagulatorisch wirken. In Kombination führen diese Veränderungen zu einem prothrombotischen Zustand (23). Weiters konnte in Studien unter der Einnahme von OC über eine erhöhte TG, eine erworbene Resistenz gegen aktiviertes Protein C, auch Faktor-V-Leiden genannt, nachgewiesen werden (2).

Erhöhte Plasminogen und erniedrigte Plasminogenaktivator Inhibitor Werte konnten ebenfalls festgestellt werden, welche gemeinsam profibrinolytisch wirken und dem prokoagulatorischen Zustand teilweise entgegenwirken können (24).

1.2.6 Variierendes VTE-Risiko

Es ist jedoch wichtig zu erwähnen, dass nicht nur allein der Einfluss von OC auf die Gerinnungsfaktoren das Risiko an einer VTE zu erleiden bestimmt, sondern auch andere Faktoren miteinzubeziehen sind. Ein wichtiger Faktor ist die Dosierung der Östrogene und Gestagene. In einer Studie von Rosendaal et. al wurde ein zweifach erhöhtes VTE-Risiko bei der Einnahme von 50 µg Ethinylestradiol im Vergleich zu einer Dosierung mit 30 µg Ethinylestradiol beschrieben (23,25). Im Vergleich zu Präparaten mit Levonorgestrel, wurde bei der Einnahme von Pillenpräparaten die Desogestrel oder Gestodene beinhalten, ein zweifach erhöhtes Thromboserisiko nachgewiesen. Bei Pillenpräparaten mit Cyproteronacetat ist das Thromboserisiko vierfach erhöht (23).

Neben den Inhaltsstoffen der Pillenpräparate ist auch das persönliche Risiko der OC-Nutzer miteinzubeziehen. Um Risikofaktoren zu evaluieren, wurde die MEGA-Studie (Multiple Environmental and Genetic Assessment) durchgeführt. In dieser konnte unter anderem festgestellt werden, dass das individuelle Risiko einer VTE bei Adipositas (BMI ≥ 30 kg/m) 2-mal höher ist als bei Normalgewichtigen (<25 kg/m) und unter der Einnahme von OC bei einem BMI >25 oder = 30kg/m sogar ein 10-fach erhöhtes VTE-Risiko besteht (26)

Die Studie konnte auch zeigen, dass bei Patientinnen mit Faktor V-Leiden unter OC Einnahme das VTE-Risiko über 30-fach höher ist als bei Personen ohne Faktor V-Leiden und ohne OC Einnahme (27). Prothrombin 20210A Träger haben ein 16-fach höheres VTE-Risiko im Vergleich mit Nicht-Trägern, die keine OCs einnehmen. Bei dieser genetischen Gerinnungsstörung liegt eine Mutation der Gene vor, die Prothrombin regulieren, was zu einer erhöhten Prothrombinkonzentration führt (28). Protein C-, S- oder Antithrombinmangel, haben ein ungefähr 8-fach höheres relatives VTE-Risiko, unter OC Einnahme (29).

Personen, die unter den genannten Gerinnungsstörungen leiden, haben generell ein höheres VTE Risiko. Dieses ist am höchstem bei Protein C-, S- oder Antithrombinmangel mit 1,01% und 0,40% im Vergleich zu 0,10% und 0,04% bei Nicht-Trägern (29).

1.3 Grundlagen der Herzschrittmachertherapie

1.3.1 Erregungsleitung des Herzens

Der Sinusknoten ist das primäre Schrittmacherzentrum des Herzens. Dieser erzeugt durch spontane Depolarisation Aktionspotentiale, welche an das Vorhofmyokard weitergeleitet werden und sich im Elektrokardiogramm (EKG) als P-Welle widerspiegeln. Die Aktionspotentiale werden verzögert über den Atrioventrikular (AV)-Knoten weitergeleitet, sodass die Vorhöfe vor dem Kammermyokard kontrahieren können. Im EKG entspricht dies der PQ-Zeit. Vom AV-Knoten erfolgt die Weiterleitung der Erregung über die His-Bündel, zu den Tawara-Schenkeln, bis hin zu den Purkinje-Fasern. Hieraus resultiert schließlich die Erregung der Ventrikel, welche sich im EKG als QRS-Komplex zeigt (30). Die T-Welle im EKG entspricht der Erregungsrückbildung der Ventrikel (31).

Grundsätzlich erzeugen sämtliche genannte Strukturen des Erregungsleitungssystems des Herzens eigene Schrittmacherpotentiale mit abnehmender Grundfrequenz. Fällt der Sinusknoten aus, übernehmen untergeordnete Schrittmacherzentren seine Aufgabe, wobei diese eine niedrigere Frequenz haben.

1.3.2 Funktionsweise eines Herzschrittmachers

Ein Herzschrittmacher ist ein kardial implantiertes elektronisches Device (CIED), welches bei gewissen Herzrhythmusstörungen angewendet wird. Er hat die Funktion artifizielle elektrische Impulse zu generieren (32). Er erkennt die körpereigene Aktivierung der Herzmuskelzellen und sendet bei Bedarf einen elektrischen Impuls aus.

Der Schrittmacher besteht aus einer Batterie, einem Aggregat, welches die Steuerungselektronik beinhaltet und mindestens einer Sonde. In der Basisprogrammierung wird eine individuelle Einstellung für den Patienten/die Patientin festgelegt. Dabei werden der Schrittmachermodus, die minimale Stimulationsrate, die Energieabgabe, sowie die Zeit zwischen dem atrialem und

ventrikulärem Impuls festgelegt (33). Der elektrische Impuls eines Herzschrittmachers wird vom Aggregat erzeugt und über Sonden an das Myokard weitergeleitet. Sonden können im Atrium und/oder im Ventrikel implantiert werden (33). Die benötigte Energie, die der Impuls haben muss, um die Myokardzellen zu depolarisieren, wird mit folgender Formel berechnet

$$E(J) = U^2 \times \frac{t}{R}$$

Energieabgabe (μ J) = Impulsamplitude (V) x Impulsdauer (ms) / Impedanz (kOhm)
(34)

1.3.3 Schrittmacherkodierung

Die Kodierung des Herzschrittmachers dient der internationalen Vereinheitlichung. Er besteht aus maximal fünf Buchstaben. Der erste Buchstabe des Codes beschreibt den Ort der Stimulation. Dieser kann im Atrium (A) und/ oder im Ventrikel (V) stattfinden. Der zweite Buchstabe steht für den Ort der Wahrnehmung, welcher sich ebenfalls im Atrium (A) und/ oder im Ventrikel (V) befinden kann. Der dritte Buchstabe des Codes beschreibt, mit welcher Aktion der Herzschrittmacher antwortet. Er kann eine elektrische Stimulation inhibieren (I), triggern (T) oder beides. Die vierte Stelle des Codes beschreibt, ob der Schrittmacher sich an die körpereigene Frequenz adaptieren kann und die fünfte Stelle des Codes wird für eine Mehrkammerstimulation verwendet (35).

Die Kodierung wird hier in der International überarbeiteten NASPE/BPEG-Schrittmachercode Tabelle (35) dargestellt:

Tabelle 2 Herzschrittmacherkodierung (36)

1.Buchstabe: Ort der Stimulation	2.Buchstabe: Ort der Wahrnehmung	3.Buchstabe: Antwort auf Wahrnehmung	4.Buchstabe: Frequenzadaption	5.Buchstabe: Mehrstellen Stimulation
0= keiner	0= keiner	0= keiner	0= keine	0= keiner
A=Atrium	A=Atrium	T=getriggert	R=Frequenzadaption	A=Atrium
V= Ventrikel	V= Ventrikel	I=inhibiert		V= Ventrikel
D=dual (A+V)	D=dual (A+V)	D=dual (I+T)		D=dual (A+V)
S=single (A oder V)	S=single (A oder V)			

1.3.4 Schrittmachermodus

Die drei wichtigsten Schrittmachermodi in der Kinderkardiologie sind der VVI-Modus, der AAI-Modus und der DDD-Modus (37).

Im VVI-Modus erfolgen Wahrnehmung sowie Stimulation im Ventrikel. Die Inhibierung erfolgt intrinsisch durch QRS-Komplexe. In diesem Modus erfolgt eine vollständige Dissoziation zwischen Atrium und Ventrikel (37). Das heißt, es gibt keine Beziehung zwischen p-Wellen und QRS-Komplexen.

Im AAI-Modus erfolgen Wahrnehmung und Stimulation im Atrium. Die Inhibierung erfolgt in diesem Modus ebenfalls intrinsisch über die p-Wellen Aktivität. Bei der Verwendung dieser Schrittmachervariante, muss die körpereigene AV-Überleitung intakt sein (31).

Im DDD-Modus erfolgen Wahrnehmung und Stimulation sowohl im Atrium als auch im Ventrikel. Die Antwort auf die Wahrnehmung kann durch Inhibierung oder Triggerung erfolgen. Dieser Modus kann bei einem kompletten AV-Block angewandt werden (37).

1.3.5 Schrittmacherindikation bei Kindern und Jugendlichen

Zu den relevantesten Schrittmacherindikationen im Kindes- und Jugendalter zählen die Sinusknotendysfunktion, der höhergradige oder komplette angeborene oder erworbene AV-Block, sowie das Bradykardie-Tachykardie Syndrom, welches meist postoperativ oder bei komplexen angeborenen Herzfehlern entsteht (37). Die Indikationen zur Schrittmacherimplantation werden in der folgenden Tabelle dargestellt.

Tabelle 3 Indikationen zur Herzschrittmachertherapie bei Kindern mit kongenitalen Herzerkrankungen (38)

Indikationen zur Herzschrittmachertherapie bei Kindern und kongenitalen Herzerkrankungen		
Empfehlungen	Empf.-grad	Evidenz-grad
1) Kongenitaler AV-Block. Eine Herzschrittmachertherapie ist bei hochgradigem oder totalem AV-Block indiziert a) bei symptomatischen Patienten b) bei asymptomatischen Patienten mit den folgenden Risikofaktoren: eingeschränkte Ventrikelfunktion, verlängertes QT _c -Intervall, komplexe ventrikuläre Extrasystolie, Ersatzrhythmus mit breitem QRS-Komplex, Kammerfrequenz < 50/min, ventrikulären Pausen > 3-fachem der Zykluslänge des Kammerrhythmus.	I	C
2) Kongenitaler AV-Block. Eine Herzschrittmachertherapie kann bei asymptomatischen Patienten mit hochgradigem oder totalem AV-Block in Abwesenheit der oben genannten Risikofaktoren erwogen werden.	IIb	C
3) Postoperativer AV-Block bei kongenitaler Herzerkrankung. Eine permanente Herzschrittmachertherapie ist indiziert bei ausgeprägtem zweitgradigem oder totalem AV-Block, der > 10 Tage persistiert.	I	B
4) Postoperativer AV-Block bei kongenitaler Herzerkrankung. Eine permanente Herzschrittmachertherapie sollte unabhängig von Symptomen erwogen werden, wenn ein persistierender postoperativer bifaszikulärer Block (mit und ohne PQ-Zeit-Verlängerung) mit einem transienten totalen AV-Block assoziiert ist.	IIa	C
5) Sinusknotenerkrankung. Eine permanente Herzschrittmachertherapie ist indiziert bei symptomatischer Sinusknotenerkrankung inklusive Bradykardie-	I	C

Tachykardie-Syndrom, wenn ein sicherer Zusammenhang zwischen Symptomen und Bradykardie diagnostiziert wird.		
6) Sinusknotenerkrankung. Eine permanente Herzschrittmachertherapie kann bei Patienten mit asymptomatischer Ruhfrequenz < 40/min oder Asystolien > 3 s sinnvoll sein.	lib	C

1.3.6 Transvenöse Schrittmacherimplantation

Die Schrittmachersonden werden entweder über die Vena jugularis, oder die Vena subclavia in das rechte Atrium, und/oder den rechten Ventrikel implantiert. Bei einer Ventrikelsonde wird im Atrium eine Schlinge gelegt, um bei Größenwachstum der Kinder einen Sondenwechsel hinauszögern zu können. Die Sonden werden im Myokard mittels Schrauben- oder Ankermechanismus fixiert. Das Schrittmacheraggregat wird entweder unter dem Musculus pectoralis implantiert oder subcutan infraklavikulär.

Eine subpectorale Implantation ist bei Kindern aufgrund des Größenwachstums selten. Bei Säuglingen und kleinen Kindern wird der Schrittmacher im Bauchbereich eingesetzt. In diesem Fall werden die Elektroden entweder direkt am Herz aufgenäht oder unter der Haut bis zu einer großen Vene und dann weiter bis in das Herz eingeführt (38,39).

1.3.7 Komplikationen

Im Zusammenhang mit der Herzschrittmacherimplantation kann es zu Komplikationen kommen. Zu diesen zählen allgemeine chirurgische Komplikationen wie Blutungen, Pneumothorax, Infektionen, Thromben und Embolien. Ebenso kann es zu einer Dislokation oder Fehlfunktion der Sonden kommen oder die Sonden könnten Gefäße oder das Myokard perforieren (37).

1.3.8 Potenzielle Einflussfaktoren auf das Thromboserisiko

Thromboembolische Ereignisse können bei jedem CIED auftreten. Da sich jedoch nur selten PatientInnen mit Symptomen präsentieren und die meisten Betroffenen

asymptomatisch sind, wurden einige Studien zur Inzidenz durchgeführt, um möglichst frühzeitig Thromben zu detektieren und zu therapieren. Mittels Echokardiografien, post mortem Untersuchungen und Venographien, konnten auch bei beschwerdefreien PatientInnen mit CIED, Thromben nachgewiesen werden. Dabei zeigte sich, dass die Inzidenz von intrakardialen Thromben, die an Elektroden haften, viel höher ist, als ursprünglich angenommen wurde (3). Zu den Risikofaktoren von schrittmacherassoziierten Thromben zählen Koagulopathien, wie ein Protein C und ein Protein S Mangel (40), Heparin induzierte Thrombozytopenien (41), Polycythämie vera (42), und die Verwendung von OCs (4).

In einem Fallbericht von Halub et al, wurde eine 22-jährige Patientin mit transvenösem Herzschrittmacher bei Sick-Sinus-Syndrom beschrieben. Zwei Wochen nach Beginn der Einnahme eines OCs (Nordette, 0.15 mg Levonorgestrel und 0.03 mg Ethinylestradiol), präsentierte sie sich mit einer einwöchigen, progredienten Schwellung, Ödemen, Zyanose und Schmerzen der rechten oberen Extremität, sowie einer Schwellung über der rechten Brust. Es konnten keine weiteren Risikofaktoren für das Entstehen der Thrombose identifiziert werden. Nach der klinischen Untersuchung wurden die OC abgesetzt und eine Therapie mit Heparin eingeleitet, wodurch die Patientin vier Tage später symptomfrei war. Dadurch wurde die Vermutung gestellt, dass die Einnahme von OCs bei Patientinnen mit transvenösem Herzschrittmacher kontraindiziert sein sollte (4).

1.3.8.1 Kontaktaktivierung/“lead thrombosis“

Es wird angenommen, dass die Schrittmachersonden selbst ein weiterer Grund sind, der zu einer erhöhten Thrombogenität führt. Faktor XI und Faktor XII werden durch den Kontakt zu unphysiologischen, negativ geladenen Oberflächen aktiviert, wodurch die Gerinnungskaskade eingeleitet wird. Zusätzlich wird vermutet, dass durch ein endotheliales Trauma im Myokard, vermehrte Turbulenzen im Blutfluss entstehen. Das Implantat kann außerdem zu einer Fremdkörperreaktion führen und folglich zu Inflammation und Fibrose an den Sonden (40). Es kann durch eine verschlechterte ventrikuläre Funktion, auch zu einer relativen Stase kommen (3).

In einer Studie von Rahbar et al, zeigte sich bei transösophagealer, sowie transthorakaler Echokardiografie eine Inzidenz von 15/1086 PatientInnen (=1,4%), mit CIED assoziierten Thromben (43). In der Studie von Novak et al konnte bei post mortem Untersuchungen eine Inzidenz von 26/78 PatientInnen (=33%) festgestellt werden (44). In der Studie von Supple et al, wurde als Untersuchungsmethode die intrakardiale Echokardiografie gewählt, wobei eine Inzidenz von 26/86 PatientInnen (=30%) angegeben wurde (45). In der Studie von Korkeila et al, zeigte sich bei einer Untersuchung mit transösophagealer Echokardiografie eine Inzidenz von 6/66 PatientInnen (=9%) und bei einer Untersuchung mit Venographie eine Inzidenz von 12/66 PatientInnen (=18%) (46).

In einem Fallbericht von Buttigieg et al. wurde eine 56-jährige Patientin mit CIED, bei therapierefraktärer linksventrikulärer Herzinsuffizienz beschrieben, die bereits mit 33 Jahren einen Herzinfarkt gehabt hatte und in der Familienanamnese eine erhöhte Anzahl an ischämischen Herzerkrankungen vorwies. Die Patientin selbst hatte keinen Bluthochdruck und war Nichtraucherin. Vier Monate nach der Implantation des CIED wurde sie mit einer 6-wöchigen episodisch verlaufenden Geschichte von Fieber, Nachtschweiß, Mattigkeit, Anorexie und einem Gewichtsverlust von 3 kg vorstellig. Es wurde eine umfangreiche Labordiagnostik inklusive Blutkulturen durchgeführt, wobei Leber-, Schilddrüsenwerte, Autoimmunreaktionen und infektiöse Erkrankungen als Ursache ausgeschlossen wurden. Es wurde eine Transthorakale Echokardiografie gemacht, wobei keine Auffälligkeiten zu erheben waren. Nachdem sich der Zustand der Patientin wieder normalisierte, wurde ein infektiöses Geschehen als Arbeitshypothese angenommen und die Patientin konnte wieder entlassen werden. 15 Tage nach der Entlassung wurde die Patientin erneut mit Fieber vorstellig. Dieselben Tests wurden wiederholt, diesmal wurde jedoch eine transösophageale Echokardiografie gemacht. Dabei zeigte sich eine 55 mm große Struktur im rechten Atrium, welche an der Schrittmachersonde anhaftend vermutet wurde. Die Schrittmachersonde und die fragliche Struktur wurden operativ entfernt und histologisch untersucht. Es stellte sich heraus, dass ein abakterieller Thrombus vorlag (3).

1.4 Begründung der Fragestellung

Da die Kontraindikation der Einnahme von OC bei Patientinnen mit transvenösem Herzschrittmacher nur auf einem einzelnen Case-Report basiert, stellt sich die Frage, ob die Gerinnung bei Herzschrittmacherpatientinnen generell voraktiviert ist. Deshalb wurden in dieser Studie Gerinnungsparameter von Herzschrittmacherpatientinnen bestimmt und mit denen von gesunden PatientInnen verglichen. Eine der Hauptzielgrößen ist die TG, welche mittels CAT gemessen wird. Dieser Wert ist sensitiv für hyper- und hypokoagulative Zustände der Gerinnung. Somit kann ein Gesamteindruck des hämostaseologischen Zustandes der Gerinnung unserer Patientinnen- und Kontrollgruppe gewonnen werden.

2 Material und Methoden

Die in der Routinediagnostik bestimmten Gerinnungsparameter sind oft nicht sensitiv genug, um milde hämostaseologische Ungleichgewichte nachzuweisen. Daher bestimmen wir zusätzlich die TG mittels der CAT. Diese Methode ist sensitiv für prokoagulatorische, sowie antikoagulatorische Einflüsse.

2.1 Studiendesign

Die Diplomarbeit behandelt das Forschungsprojekt „Pilotstudie: Evaluierung des hämostaseologischen Status bei jugendlichen Patientinnen mit transvenösem Herzschrittmacher“. Dabei handelt es sich um eine interdisziplinäre, prospektive Studie der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde der Medizinische Universität Graz. Es wurden auch Patientinnen der Universitätsklinik für Innere Medizin der Medizinische Universität Graz eingeschlossen.

Die Hauptzielgröße war die TG, welche mittels Calibrated Automated Thrombography (CAT) gemessen wurde. Zu den Nebenzielgrößen zählten Quick, International Normalized Ratio (INR), PT, aPTT, sowie die Prothrombin-Fragmente 1 und 2 (F1+F2). Es wurden auch Basisdaten der Studienteilnehmer, wie Geburtsdatum, Geschlecht und aktuelle Medikation erhoben. Die schriftliche Aufklärung und Einwilligung der Patientinnen bzw. der Erziehungsberechtigten erfolgte mittels Aufklärungsformular. Das positive Ethikkommissionsvotum hat die Nummer 32-396 ex 19/20.

2.2 Ein- und Ausschlusskriterien

2.2.1 Ein- und Ausschlusskriterien der Patientinnengruppe:

Die Ein- und Ausschlusskriterien der Patientinnengruppe sind in Tabelle 3 beschrieben. Zusätzlich war das Vorliegen folgender Daten obligatorisch: Geburtsdatum, Geschlecht, Datum der Blutabnahme und aktuelle Medikation.

Tabelle 4 Ein- und Ausschlusskriterien der Patientinnengruppe

Einschlusskriterien Patientinnengruppe:	Ausschlusskriterien Patientinnengruppe:
<ul style="list-style-type: none"> • Schrittmachemodus: <ul style="list-style-type: none"> ◦ AAI ◦ VVI ◦ DDD • Liegedauer des Herzschrittmachers: <ul style="list-style-type: none"> ◦ mindestens 6 Monaten • Eingesetzte Menstruation 	<ul style="list-style-type: none"> • Einnahme oraler Kontrazeptiva • Schwangerschaft • Stillen • Folgende gesundheitliche Einschränkungen: <ul style="list-style-type: none"> ◦ Dekompensierte Leberzirrhose (INR >1,5) ◦ Aszites ◦ Albuminwerte < 3,0 mg/dl ◦ Hepatische Enzephalopathie ◦ Immundefizienzen ◦ Diabetes mellitus ◦ Lebertransplantation ◦ Chemotherapie ◦ Alkohol- oder Drogenabusus

2.2.2 Ein- und Ausschlusskriterien der Kontrollgruppe:

Die Ein- und Ausschlusskriterien der Kontrollgruppe sind in der Tabelle 4 dargestellt. Das Vorliegen von Geburtsdatum der Patientinnen, Geschlecht, Datum der Blutentnahme, sowie derzeitiger Medikation waren ebenfalls erforderlich.

Tabelle 5 Ein- und Ausschlusskriterien der Kontrollgruppe

Einschlusskriterien Kontrollgruppe:	Ausschlusskriterien Kontrollgruppe:
<ul style="list-style-type: none"> • Eingesetzte Menstruation 	<ul style="list-style-type: none"> • Herzschrittmacher • Einnahme oraler Kontrazeptiva • Schwangerschaft • Stillen • Folgende gesundheitliche Einschränkungen: <ul style="list-style-type: none"> ◦ Dekompensierte Leberirrhose (INR >1,5) ◦ Asziten ◦ Albuminwerte < 3,0 mg/dl ◦ Hepatische Enzephalopathie ◦ Immundefizienzen

	<ul style="list-style-type: none"> ◦ Diabetes mellitus ◦ Lebertransplantation ◦ Chemotherapie ◦ Alkohol- oder Drogenabusus
--	--

2.3 Probengewinnung

Die Sammlung der Proben der Patientinnengruppe erfolgte an der Ambulanz der Kardiologischen Abteilung, der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde, sowie der Ambulanz für Erwachsene mit angeborenen Herzfehlern im LKH-Graz im Rahmen von Routinekontrolluntersuchungen. Die Blutproben wurden mit einer gesunden, altersgematchten Kontrollgruppe verglichen. Die Proben der Kontrollgruppe wurden bei ambulanten Untersuchungsterminen an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde, sowie der Herzschrittmacherambulanz für Erwachsene der Medizinische Universität Graz gewonnen.

Es wurden im Zuge von Routineblutabnahmen zusätzlich zum Routinelabor zwei Citratröhrchen, mit 2x3 ml Blut abgenommen. Dadurch entstand keine zusätzliche Invasivität bei der Probengewinnung. Die Proben wurden innerhalb einer Stunde nach Abnahme zentrifugiert und danach bis zum Zeitpunkt der Messung eingefroren.

2.4 Labormethoden

2.4.1 Messung der Thrombingeneration

Zur in vitro Messung der TG wurde die CAT angewandt. Das Citratblut der Studienteilnehmer, welches zuvor bei -80°C gelagert wurde, wurde laut Protokoll über eine Dauer von 5 Minuten, in einem 37°C warmen Wasserbad aufgetaut.

Vor der Durchführung der Messung wurden der Kalibrator (Stago, Frankreich), sowie das Reagenz (Stago; 5 pM Tissue Faktor und 4 μM Phospholipid), die bei 2-

8°C gelagert wurden, auf Raumtemperatur gebracht. Das gefriergetrocknete Reagenz wurde zuerst in 1 ml destilliertem Wasser aufgelöst.

Das fluoreszierende Substrat (Bachem, Schweiz) und der Assay-Puffer, welcher bei -20°C gelagert wurde, wurde auch auf Raumtemperatur gebracht. Danach wurden 300 µl einer Kalziumlösung (1 molar) und 2,652 µl des Assay-Puffers in einem Reagenzglas vermischt. Dieses wurde mit Parafilm abgedeckt und bei 37°C inkubiert. 40 ml destilliertes Wasser wurden in einer Glasflasche verschlossen bei 37°C inkubiert.

Vor der Durchführung wurden der Fluoreszenz-Mikroplattenleser und die zugehörige Thrombinoscope-Software hochgefahren. Der voreingestellte Kalibrator wurde an die Thrombinaktivität des spezifischen Kalibrators, der für das Assay verwendet wurde angepasst. Die Schublade des Plattenlesers wurde zur Inkubation bei 37°C verschlossen. Eine systematische Beschriftung der Proben wurde in der Software festgelegt.

Es wurden je 80 µl einer Plasmaprobe, sowie 20 µl des Reagenzes oder des Kalibrators in eine Vertiefung der 96-Well-Mikrotiterplatte pipettiert. Jede Probe wurde dreifach vermessen, um die Messgenauigkeit zu erhöhen. Nachdem alle Proben pipettiert wurden, konnte die Mikrotiterplatte in die Plattenleserschublade gestellt werden. Dort wurden sie für 10 Minuten bei 37°C inkubiert. Während dieser Zeit wurden 75 µl des fluoreszierenden Substrats zu der Mischung aus Kalzium und des Assay- Puffers hinzugefügt. Die Mischung wurde wieder bei 37°C inkubiert.

Nach Beendigung der Inkubation, wurden die Mischung und das destillierte Wasser aus dem Inkubator genommen, um die vorgeschriebenen Wasch-, Entleerungs- und Füllschritte nach den Angaben der Thrombinoscope-Software durchzuführen. Während der Waschzeit wurde das Ansaugrohr zuerst in die Flasche destillierten Wassers gelegt, während die Spenderspitze über einem leeren Becherglas positioniert wurde. Nach Beendigung des Waschens, wurde das Ansaugrohr aus dem destillierten Wasser genommen und die Spenderspitze über ein leeres Becherglas gehalten. Als der Waschvorgang abgeschlossen war, wurden das Ansaugrohr und die Spenderspitze in die Fluoreszenzmischung (Assay- Puffer, Substrat und Kalzium) gegeben.

Danach wurde die Messung des Fluoreszenz-Mikroplattenlesers gestartet. Die TG wurde durch automatisierte Zugabe von jeweils 20 µl der Fluoreszenzmischung initiiert, und die Erstellung der Thrombogramme konnte in Echtzeit über die Thrombinoscope-Software beobachtet werden.

Die Dauer der Messung betrug 1 Stunde und schloss mit dem Abbruch der Thrombinbildung ab.

2.4.2 Messung der Prothrombin Fragmente 1+2

Um die in vivo TG zu überprüfen, wurden die Prothrombin Fragmente 1+2 (F1+F2) im Plasma mittels eines kommerziellen ELISA Tests (Siemens, Deutschland) quantifiziert. Die Messung wurde mit unverdünntem Plasma in Doppelbestimmungen nach Anleitung des Anbieters durchgeführt.

Die Detektion des Enzym-Substrat Komplex erfolgte bei einer Wellenlänge von 450 nm.

2.4.3 PT

Die Messung der PT wurde auf einem ACL Top 350 Coagulation Analyzer (Werfen, Deutschland), mit dem Aktivierungsreagenz ReadiplasTin (Werfen) durchgeführt.

2.4.4 aPTT

Die Messung der aPTT wurde auf einem ACL Top 350 Coagulation Analyzer (Werfen, Deutschland), mit dem Aktivierungsreagenz SynthASil (Werfen) durchgeführt.

2.5 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit dem Programm GraphPad Prism. Die Daten wurden als gepaarte Stichproben ausgewertet. Bei den normalverteilten

Daten wurde ein t-Test angewandt. Bei den Daten, die nicht normalverteilt waren, wurde ein Wilcoxon Test angewandt.

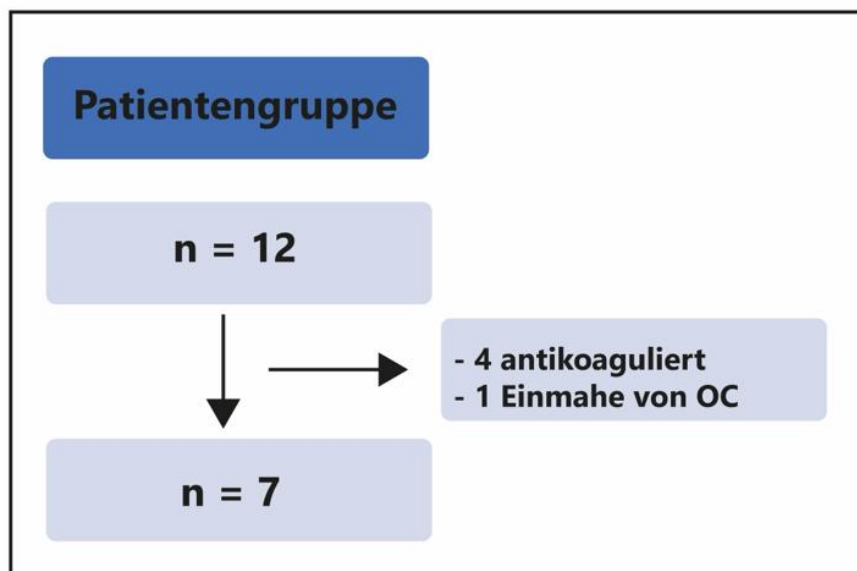
3 Ergebnisse

Der nächste Abschnitt beschreibt die Ergebnisse, die in der Studie erhoben wurden. Dies umfasst eine genaue Beschreibung der Studienpopulation, sowie die Auswertung der CAT-Analyse, des F1+F2 ELISAs, der PT und aPTT.

3.1 Statistische Auswertung der Studienpopulation:

Zu Beginn wurden 36 Proben gesammelt. Davon waren 12 Proben zur Patientinnengruppe zugehörig und 24 zählten zu der Kontrollgruppe. Von der Patientinnengruppe mussten fünf Personen ausgeschlossen werden, da vier eine Vitamin-K-Antagonisten einnahmen und eine Patientin OC einnahm. Somit wurden nur sieben Patientinnen und sieben Kontrollen in die Auswertung miteinbezogen. In einer Studie von Haidl et al. zeigte sich, dass die TG altersabhängig ist. Deshalb wurden die Studienteilnehmer paarweise nach ihrem Alter zugeordnet (47). Metrische Variablen wurden als Median [IQR] dargestellt.

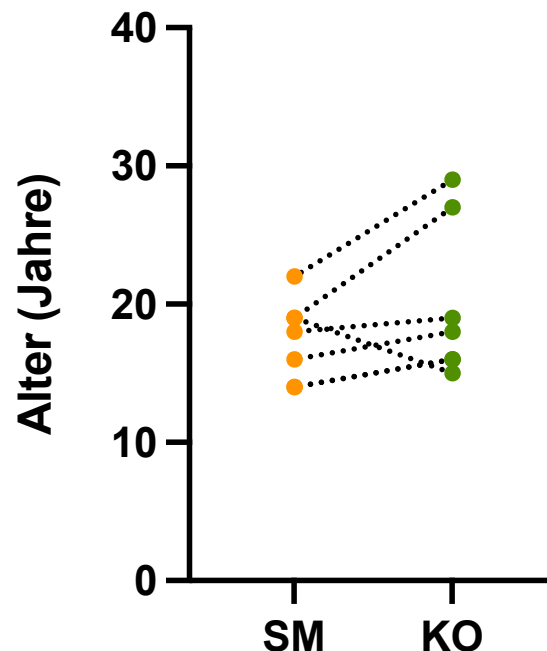
Abbildung 5 Flussdiagramm zum Ausschluss von Teilnehmern



In Abbildung 6 ist die Altersverteilung der Studienteilnehmer dargestellt. Die Kohorte der Studienpopulation hatte eine Altersverteilung von 14-23 Jahren. Der Median lag bei 18 [14-20] Jahren. Das Alter der Kontrollgruppe lag zwischen 16-30 Jahren, mit

einem Median von 18 [17-27] Jahren. Die maximale Altersdifferenz zwischen Herzschrittmacherpatientin und Kontrolle lag bei 7 Jahren.

Abbildung 6 Altersverteilung der Studienpopulation



3.2 Herzschrittmacherpatientinnen

Die Studiengruppe umfasste sieben Patientinnen. Davon hatten sechs einen Herzschrittmacher im DDD-Modus und eine einen Herzschrittmacher im AAI Modus. Der Grund der Implantation war bei allen Patientinnen ein AV-Block III. Eine Patientin hatte zusätzlich zum AV-Block III°, ein Sick-Sinus Syndrom. Eine Trägerin hatte einen zweifachen Schrittmacherwechsel. Der erste Wechsel fand aufgrund der Aufrüstung eines VVI-Schrittmachers zu einem DDD-Schrittmacher statt und der Zweite aufgrund einer Batterieermüdung.

3.3 Datenanalyse der Calibrated Automated Thrombogram Ergebnisse

Im folgenden Abschnitt werden die einzelnen Parameter der CAT Ergebnisse beschrieben. Die genaue Bedeutung der einzelnen Parameter ist in Kapitel 2.4.1 beschrieben.

Die Lagtime lag bei der Patientinnengruppe im Median bei 2,22 [2,00-2,78] min. Im Vergleich dazu lag der Median bei der Kontrollgruppe bei 3,00 [2,33-3,44] min. Der Unterschied war nicht signifikant (P-Wert= 0,2969) (Abbildung 6 A).

Das ETP der Patientinnengruppe hatte einen Median von 1387 [937,5-1443,0] nm*min. Der Median der Kontrollgruppe lag bei 1208 [1031-1483] nm*min. Der Unterschied war nicht signifikant (P-Wert=0.6875) (Abbildung 6 B).

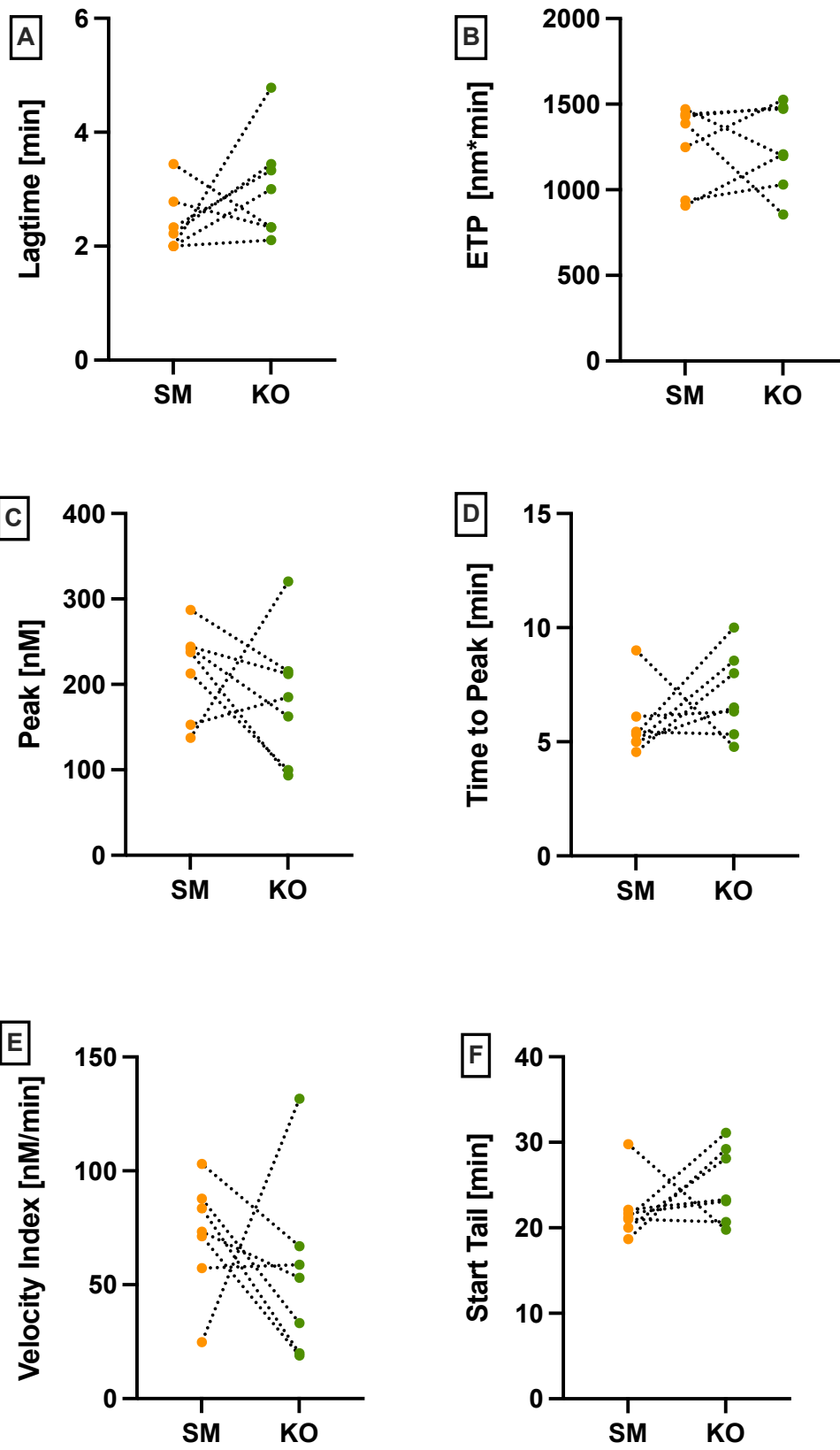
Der Peak der Thrombinproduktion hatte in der Patientinnengruppe einen Median von 237,8 [152,9-244,2] nM. Der Peak der Kontrollgruppe lag im Median bei 185,0 [99,8-215,4] nM. Der Unterschied war nicht signifikant (P-Wert=0,4696) (Abbildung 6 C).

Die Time to Peak lag bei der Patientinnengruppe im Median bei 5,33 [5,00-6,11] min. In der Kontrollgruppe lag der Median bei 6,60 [5,33-8,56] min. Der Unterschied war nicht signifikant (P-Wert=0,2969) (Abbildung 6 D).

Der Velocity Index hatte bei der Patientinnengruppe einen Median von 73,27 [57,33-87,77] nM/min. In der Kontrollgruppe lag der Median bei 53,04 [19,97-66,92] nM/min. Der Unterschied war nicht signifikant (P-Wert= 0,4765) (Abbildung 6 E).

Der Start Tail der Patientinnengruppe lag im Median bei 21,22 [20,00- 22,11] min. In der Kontrollgruppe war der Start Tail im Median bei 23,33 [20,67-29,22] min. Der Unterschied war nicht signifikant (P-Wert=0,2969) (Abbildung 6 F).

Abbildung 6 Ergebnisse der CAT Messung



3.4 Datenanalyse der Calibrated Automated Thrombogram Ergebnisse der Patientinnen ohne Schrittmacherwechsel

Im nachfolgenden Abschnitt werden die Daten ohne die Patientin mit zweifachem Schrittmacherwechsel beschrieben. Die Messergebnisse dieser Patientin waren auffällig, da sie im Gegensatz zu den Tendenzen der restlichen Patientinnen stand. Um sicherzustellen, dass die Daten nicht durch den Schrittmacherwechsel beeinflusst wurden, wurden die Daten nochmals ohne diese Patientin analysiert.

Der Median der Lagtime der Patientinnengruppe ohne Schrittmacherwechsel lag bei 2,11 [2,00-2,78] min. Der Median der Kontrollgruppe lag bei 3,17 [2,28-3,78] min. Der Unterschied war nicht signifikant (P-Wert= 0,09).

Das ETP der Patientinnengruppe ohne Schrittmacherwechsel hatte einen Median von 1318,0 [929,81450,0,0] nm*min. Der Mittelwert der Kontrollgruppe lag bei 1203,0 [987,2-1486,0] nm*min. Der Unterschied war nicht signifikant (P-Wert=0.9030).

Der Peak der Thrombinproduktion hatte in der Patientinnengruppe ohne Schrittmacherwechsel einen Median von 240,0 [197,8-255,0] nM. Der Peak der Kontrollgruppe lag im Median bei 173,8 [98,21-213,0] nM. Der Unterschied war signifikant (P-Wert=0,0436).

Die Time to Peak lag bei der Patientinnengruppe ohne Schrittmacherwechsel im Median bei 5,17 [4,89-5,61] min. In der Kontrollgruppe lag der Median bei 7,25 [6,08-8,92] min. Der Unterschied war nicht signifikant (P-Wert=0,0396).

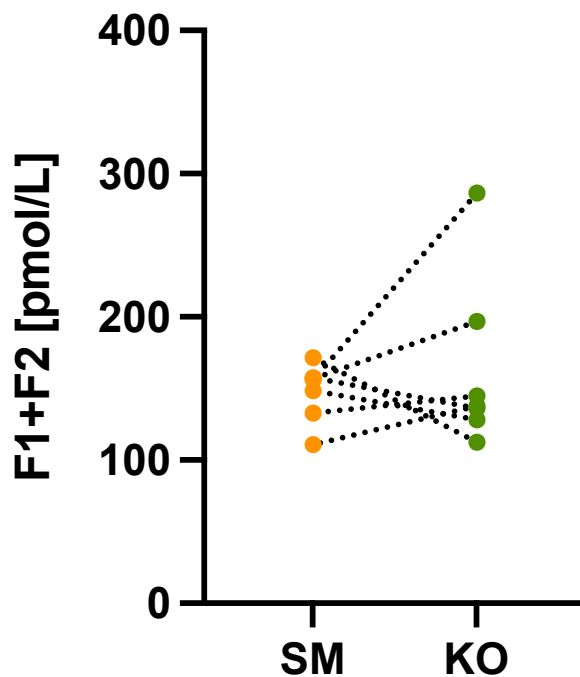
Der Velocity Index hatte bei der Patientinnengruppe ohne Schrittmacherwechsel einen Median von 78,44 [67,85-19,72] nM/min. In der Kontrollgruppe lag der Median bei 43,13 [19,72-60,79] nM/min. Der Unterschied war signifikant (P-Wert= 0,0133).

Der Start Tail der Patientinnengruppe ohne Schrittmacherwechsel lag im Median bei 21,11 [19,67-21,78] min. In der Kontrollgruppe war der Start Tail im Median bei 25,72 [22,50-29,69] min. Der Unterschied war nicht signifikant (P-Wert=0,0496).

3.5 Datenanalyse der PFA-100 Ergebnisse

Der Mittelwert der F1+F2 Analyse lag in der Patientinnengruppe bei 147,8 [110,9-171.7] pmol/l. In der Kontrollgruppe lag der Mittelwert bei 164,3 [98,6- 286,6] pmol/l. Der Unterschied war nicht signifikant (P-Wert=0,5258).

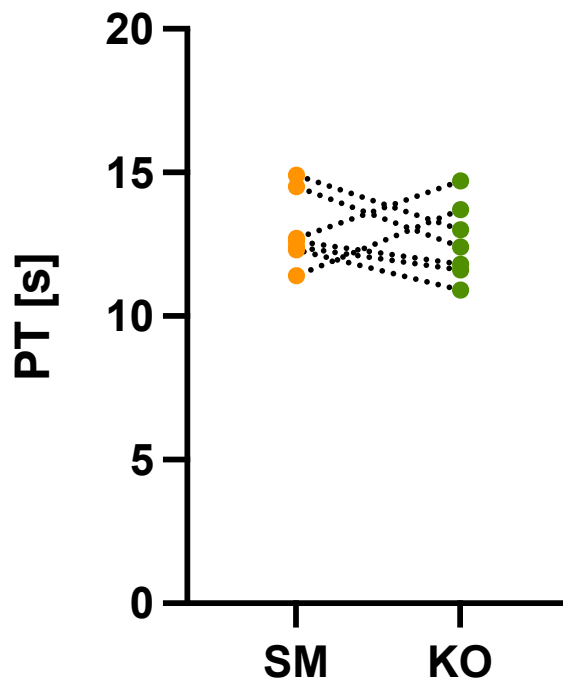
Abbildung 6 Verbundenes Punktdiagramm der PFA-100 Auswertung



3.6 Datenanalyse der Prothrombinzeit

Der Mittelwert der PT lag in der Patientinnengruppe bei 12,97 [11,40- 14,90] s. In der Kontrollgruppe lag der Mittelwert bei 12,59 [10,90-14,70] s. Der Unterschied war nicht signifikant (P-Wert= 0,5919). In der Gruppe der Patientinnen, sowie in der Kontrollgruppe war je ein Wert über dem Referenzbereich.

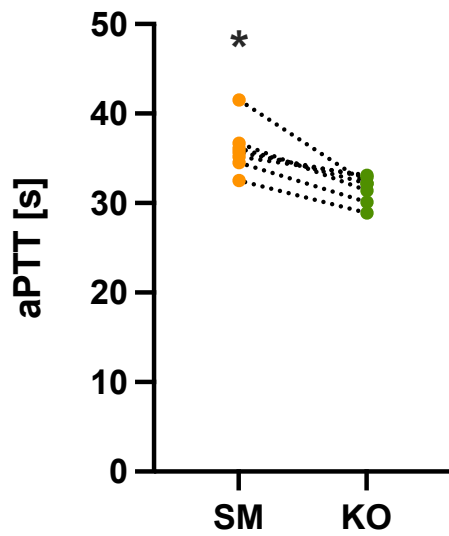
Abbildung 7 Verbundenes Punktdiagramm der PT Auswertung



3.7 Datenanalyse der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit

Die aPTT der Patientinnengruppe lag im Mittelwert bei 36,03 [32,50- 41,50] s. In der Kontrollgruppe lag der Mittelwert bei 31,54 [28,90- 33,10] s. Die aPTT der Patientinnengruppe war signifikant erhöht (P-Wert= 0,0024). Alle Werte der Kontrollgruppe lagen im Referenzbereich. Eine der sieben Herzschrittmacherpatientinnen lag mit einem Wert von 41,50 Sekunden über dem Referenzbereich [24,6-38,4].

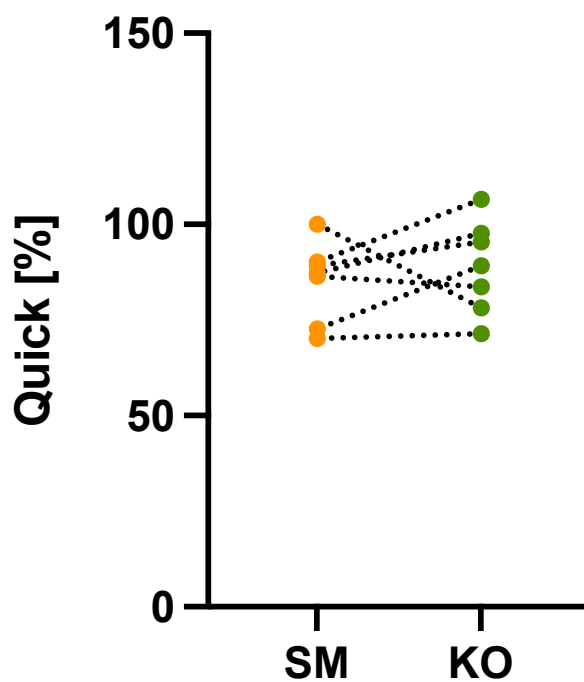
Abbildung 8 Verbundenes Punktdiagramm der aPTT Auswertung; *P<0,05



3.8 Datenanalyse des Quick Werts

Der Quick-Wert der Patientinnengruppe lag im Median bei 87,31 [72,65- 90,18] s. Der Median der Kontrollgruppe lag bei 89,20 [78,18- 97,68] %. Der Unterschied war nicht signifikant (P-Wert= 0,4878).

Abbildung 9 Verbundenes Punktdiagramm der Quick-Wert Auswertung



4 Diskussion

Es ist derzeit unklar, ob das Vorhandensein eines Herzschrittmachers eine Kontraindikation für eine Verhütung mit OC darstellt. Das führt zu dem Problem, dass die Wahl der Kontrazeption für Schrittmacherpatientinnen oft mit Unsicherheiten einhergeht. OC zählen zu den am häufigsten verwendeten und zuverlässigsten Verhütungsmethoden. Es ist jedoch auch bekannt, dass die Einnahme von OCs zu einem erhöhtem absoluten Thromboserisiko führt (1). Dies lässt sich darauf zurückführen, dass synthetische Östrogene und Gestagene bestimmte Gerinnungsfaktoren, Protein C/S und Antithrombin beeinflussen können (2,23). Darüber hinaus kann die Einnahme von OCs zu einer erworbenen Protein C Resistenz und einer Erhöhung der TG führen (23).

Eine Assoziation zwischen Herzschrittmachern und OC wurde erstmals in einem Casereport von Halub et. al. aus dem Jahr 1984 beschrieben. In diesem wurde über eine 22-jährige Patientin mit transvenösem Herzschrittmacher berichtet, bei der zwei Jahre nach Herzschrittmacherimplantation die Pille eingeleitet wurde. Nach 2-wöchiger Einnahme des Östrogen-Gestagen Kombinationspräparats entwickelte sie eine TVT der oberen Extremität. Infolgedessen nahmen Halub et. al. nach Ausschluss anderer Risikofaktoren an, dass die Einnahme von OC der Auslöser gewesen sei. Somit kamen sie zu der Annahme, dass OCs bei Herzschrittmachern kontraindiziert sein sollten. Als alternative Verhütung wurden in dem Paper Kondome, Kontrazeptionsschaum, sowie eine frühe Termination einer unerwünschten Schwangerschaft empfohlen (4).

Das Ziel dieser Studie bestand darin, herauszufinden, ob bei Schrittmacherpatientinnen ein prothrombotischer Gerinnungszustand vorliegt, welcher gegen die Einnahme von OCs sprechen würde. Zur Untersuchung der Fragestellung wurden Gerinnungsparameter von Herzschrittmacherpatientinnen bestimmt und mit denen einer gesunden Kontrollgruppe verglichen. Eine der Hauptzielgrößen war die TG, welche mittels der CAT gemessen wurde. Dieser Wert ist sensitiv für hyper- und hypokoagulative Zustände der Gerinnung und wird in der Routinediagnostik nicht verwendet. Somit konnte ein Gesamteindruck des

hämostaseologischen Zustandes der Patientinnen- und Kontrollgruppe gewonnen werden.

Die CAT-Parameter zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen der Gruppe der Patientinnen mit Herzschrittmachern und der Kontrollgruppe. Es wurden jedoch tendenzielle Unterschiede im Peak, in der Time to Peak und im Velocity Index beobachtet. Der Peak war in der Studiengruppe tendenziell höher als in der Kontrollgruppe, während die Time to Peak in der Studiengruppe tendenziell kürzer war. Der Velocity Index war in der Studiengruppe tendenziell höher als in der Kontrollgruppe. Die Unterschiede waren jedoch statistisch nicht signifikant.

Die Ergebnisse der Messungen bei einer Patientin mit zweifach Herzschrittmacherwechsel wichen von der Tendenz der anderen Patientinnen ab. Um sicherzustellen, dass die Daten nicht durch die Schrittmacherwechsel beeinflusst wurden, wurden sie ohne diese Patientin analysiert. Die Daten waren normalverteilt und zeigten bei den Teilnehmerinnen ohne Schrittmacherwechsel signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe in Bezug auf den Peak, welche in der Patientinnengruppe höher war, die Time to Peak, die in der Patientinnengruppe kürzer war und den Velocity Index, welcher in der Patientinnengruppe höher war. Die kürzere Time to Peak und der höhere Velocity Index deuten darauf hin, dass die Blutgerinnung in der Studiengruppe schneller abläuft und das Thrombin schneller und in größerer Menge produziert wird. Der höhere Peak bedeutet, dass in der Studiengruppe eine größere Menge an Thrombin gebildet wurde. Die Unterschiede zwischen den Gruppen waren jedoch subtil und deuten nicht auf eine hämostaseologische Dysbalance in der Patientinnenkohorte hin.

Die betreffende Patientin wies einige Unterschiede zu den übrigen Studienteilnehmerinnen auf. Einerseits hatte sie Trisomie 21 und war mit 23 Jahren das älteste Gruppenmitglied, während der Median des Alters in der restlichen Patientinnengruppe bei 17 (14-19) Jahren lag. Andererseits hatte sie eine deutlich längere Verwendungsdauer des Schrittmachers von 21 Jahren, während die restlichen sechs Teilnehmer im Median eine Verwendungsdauer von 4 (2-7) Jahren aufwiesen. Da die Patientin gegenläufig zur restlichen Kohorte eine niedrigere TG hatte, kann eine prothrombotische Tendenz in diesem Fall ausgeschlossen werden.

In der Studienpopulation trugen sechs Patientinnen einen DDD-Schrittmacher und eine Patientin einen AAI-Schrittmacher. Es wurden keine Unterschiede in den Ergebnissen zwischen den beiden Schrittmachermodi festgestellt, was darauf hindeutet, dass kein spezifischer Schrittmachermodus mit einem prothrombotischen Zustand assoziiert ist.

Insgesamt deuten die CAT-Daten auf keinen substanziellen prothrombotischen Shift hin. Insbesondere das endogene Thrombinpotential (ETP), ein wichtiger Marker für die hämostaseologische Balance, war zwischen den Gruppen vergleichbar.

Bei den Nebenzielgrößen zeigte sich ein signifikanter Unterschied in der aPTT, welche in der Gruppe der Herzschrittmacherpatientinnen höher war als in der Kontrollgruppe. Die aPTT-Werte der Herzschrittmacherpatientinnen lagen jedoch immer noch im Normbereich. In Bezug auf die PT und F1+F2 wurden keine signifikanten Unterschiede gemessen.

Die Unterschiede in den aPTT-Werten waren gegenläufig zu den Tendenzen in den CAT-Daten, was auf methodische Unterschiede zurückzuführen ist. Der CAT-Assay ist deutlich sensitiver für Inhibitoren der Hämostase als die aPTT, weil die Gerinnung mit deutlich niedrigeren Aktivator-Konzentrationen induziert wird. Die minimal niedrigeren Spiegel an Gerinnungsfaktoren in der Gruppe der Herzschrittmacherpatientinnen, welche zu einer längeren aPTT führen können, dürften durch niedrigere Inhibitor-Spiegel mehr als ausgeglichen werden, was allerdings lediglich im CAT-Assay beobachtbar ist.

Unter Einschluss aller Studienteilnehmer zeigte sich basierend auf unsere Studienergebnissen kein prothrombotischer Gerinnungsstatus bei Herzschrittmacherpatienten mit regelrechter Schrittmacherfunktion. Dies legt nahe, dass Herzschrittmacherpatientinnen unter Einnahme von OC kein höheres VTE-Risiko haben als Frauen ohne Herzschrittmacher, die OC einnehmen.

Eine Limitation der Studie war die geringe Fallzahl an Herzschrittmacherpatientinnen in der zuvor festgelegten Altersgruppe. Ob die

geringe Fallzahl der Grund war, dass keine signifikanten Unterschiede gemessen werden konnten, oder ob es tatsächlich keine signifikanten Unterschiede gibt, lässt sich daher nicht eindeutig festhalten. Daher kann auf dieser Basis keine eindeutige Empfehlung zur Verwendung kombinierter OCs ausgesprochen werden und es sollten alternative Verhütungsmethoden in Betracht gezogen werden. Die CAT-Messung zeigte jedoch eine Streuung in der TG innerhalb der Patientinnenkohorte mit Herzschrittmachern, obwohl die aPTT-Werte durchwegs im Normalbereich lagen. Dies unterstreicht die Bedeutung einer sensibleren Messung und deutet darauf hin, dass die CAT-Methodik in Zukunft als Grundlage für personalisierte Entscheidungen bei der Gabe von OC bei Patientinnen mit Herzschrittmachern dienen könnte.

Es gilt zu beachten, dass das VTE-Risiko bei anders applizierten Östrogen-Gestagen Kombinationspräparaten gleich der oralen Einnahme ist. In einer Studie von Lidegarrd et. al. zeigte sich ein 7.9-fach erhöhtes Risiko bei der Verwendung transdermaler Levonorgestrel und Estradiol (30-40 µg) im Vergleich zu Nicht-Anwendern. Bei der Verwendung des Vaginalrings zeigte sich ein 6.5-faches VTE-Risiko (48). Somit können auch diese Verhütungsmethoden nicht mit Sicherheit empfohlen werden.

Bei einem erhöhten Thromboembolierisiko empfiehlt die WHO die Einnahme von Gestagenmonopräparaten, wobei die Studienlagen diesbezüglich aktuell noch keine eindeutigen Ergebnisse hat. In einer systematischen Übersicht wurden alle relevanten Pubmed Studien bezüglich des Thromboserisikos bei der Einnahme von Progestin-Monopräparaten (PMP) bis 2016 analysiert. Dabei wurde kein Hinweis auf ein erhöhtes Thromboserisiko bei der Verwendung von oralen PMPs, Gestagen-Implantaten oder Levonorgestrel freisetzenden Intrauterinpressaren festgestellt. Wobei in drei Studien ein erhöhtes Risiko bei der Verwendung von Gestageninjektaten gezeigt wurde (49).

Eine Möglichkeit stellt die Verwendung von nicht hormonellen Kontrazeptionsmethoden dar. Zu diesen zählen die Kupferspirale, Barrieremethoden und Die natürliche Familienplanung.

Sollte die Patientin dennoch einen ausdrücklichen Wunsch nach einer Kombinationspille als Verhütungsmethode haben oder aufgrund einer Erkrankung wie Endometriose oder einem polyzystischen Ovarialsyndrom eine Indikation für die Anwendung bestehen, sollte dies unbedingt in enger Absprache mit einem Arzt erfolgen. In solchen Fällen sollte berücksichtigt werden, dass das Thromboserisiko bei zunehmendem Östrogengehalt steigt und auch von der Zusammensetzung der Pille abhängig ist (24).

Als Ausblick könnte eine Wiederholung der Studie mit einer größeren Studienpopulation durchgeführt werden, um ein umfassenderes Verständnis des Gerinnungszustands der Herzschrittmacherpatientinnen zu erlangen. Mit einer größeren Studienpopulation könnten auch Faktoren wie Schrittmacherwechsel, -typ und Liegedauer genauer analysiert werden.

5 Literaturverzeichnis:

1. Rosendaal FR, Helmerhorst FM, Vandenbroucke JP. Female Hormones and Thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002 Feb;22(2).
2. Mohamed ABO, Kelchtermans H, Konings J, van Daal J, al Marzouki A, Harakeh S, et al. The effects of oral contraceptive usage on thrombin generation and activated protein C resistance in Saudi women, with a possible impact of the body mass index. *PLoS One.* 2018 Oct 25;13(10).
3. Buttigieg J, Asciak R, Mallia Azzopardi C. Pacemaker lead-associated thrombosis in cardiac resynchronisation therapy. *BMJ Case Rep.* 2015 Jul 7;bcr2015210314.
4. Halub MF, Robie G, Deere LF. Thrombosis due to permanent pacemaker and oral contraceptives. *Am J Obstet Gynecol.* 1985 Nov;153(5):571–2.
5. Hemker HC, Giesen P, AIDieri R, Regnault V, de Smed E, Wagenvoord R, et al. The Calibrated Automated Thrombogram (CAT): a universal routine test for hyper- and hypocoagulability. *Pathophysiol Haemost Thromb.* 2002;32(5–6).
6. Horn F, Armbruster M, Berghold S, Blaeschke F, Grillhösl C, Harrasser S, et al. *Biochemie des Menschen.* Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2019.
7. Behrends JC, Bischofberger J, Deutzmann R, Ehmke H, Frings S, Grissmer S, et al. *Physiologie.* Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2017.
8. Georg Löffler. *Basiswissen Biochemie.* Vol. 7. Springer; 2008. 374–378 p.
9. Pape H, Kurtz A., Silbernagl S. *Physiologie.* Pape HC, Kurtz A, Silbernagl S, editors. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2019.

10. Hoffman M, Monroe DM. A cell-based model of hemostasis. *Thromb Haemost.* 2001 Jun;85(6):958–65.
11. Broze Jr. GJ. Tissue factor pathway inhibitor: structure-function. *Frontiers in Bioscience.* 2012;17(1):262.
12. Wypasek E, Undas A. Protein C and protein S deficiency - practical diagnostic issues. *Adv Clin Exp Med.* 22(4).
13. Hemker HC, al Dieri R, de Smedt E, Béguin S. Thrombin generation, a function test of the haemostatic-thrombotic system. *Thromb Haemost.* 2006 Nov;96(5).
14. Kaufmann M, Costa SD, Scharl A. *Die Gynäkologie.* Die Gynäkologie. Springer Berlin Heidelberg; 2013.
15. Petru ERP; BRV; AT; RMLRTK; Geigl, J. *Gynäkologie Pathologie und Humangenetik.* Vol. 10. Graz: Servicebetrieb ÖH-Uni Graz GMBH; 2017.
16. Offermanns S. *Sexualhormone.* 2012.
17. Felberbaum R, Diedrich K, Jonat W, Ortmann O, Crohns C, Hußlein E m, et al. *Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin.*
18. Amari F, Beyer DA, Ludwig M, Felberbaum RE, Weiss JM, Diedrich K. Kontrazeption und Familienplanung. In: *Die Gynäkologie.* Springer Berlin Heidelberg; 2013. p. 209–30.
19. Edwards M, Can AS. *Progestins.* StatPearls Publishing. 2020.
20. Spitzer WO. The 1995 pill scare revisited: anatomy of a non-epidemic. *Human Reproduction.* 1997 Nov 1;12(11).

21. Ann Furedi. The public health implications of the 1995 'pill scare'. *Hum Reprod Update*. 1999 Nov;5(6).
22. Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte. Rote-Hand-Brief zu kombinierten hormonalen Kontrazeptiva, einschließlich Informationsmaterialien: Risiko von venösen Thromboembolien.
23. Rosendaal FR, van Hylckama Vlieg A, Tanis BC, Helmerhorst FM. Estrogens, progestogens and thrombosis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2003 Jul;1(7).
24. Norris LA, Bonnar J. The effect of oestrogen dose and progestogen type on haemostatic changes in women taking low dose oral contraceptives. *BJOG*. 1996 Mar;103(3).
25. Gerstman BB, Piper JM, Tomita DK, Ferguson WJ, Stadel B v., Lundin FE. Oral Contraceptive Estrogen Dose and the Risk of Deep Venous Thromboembolic Disease. *Am J Epidemiol*. 1991 Jan 1;133(1).
26. Abdollahi M CMRF. Obesity: risk of venous thrombosis and the interaction with coagulation factor levels and oral contraceptive use. 2003 Mar;
27. Vandenbroucke JP, Koster T, Rosendaal FR, Briët E, Reitsma PH, Bertina RM. Increased risk of venous thrombosis in oral-contraceptive users who are carriers of factor V Leiden mutation. *The Lancet*. 1994 Nov;344(8935).
28. Martinelli I, Taioli E, Bucciarelli P, Akhavan S, Mannucci PM. Interaction Between the G20210A Mutation of the Prothrombin Gene and Oral Contraceptive Use in Deep Vein Thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999 Mar;19(3).
29. Simioni P, Sanson BJ, Prandoni P, Tormene D, Friederich PW, Girolami B, et al. Incidence of venous thromboembolism in families with inherited thrombophilia. *Thromb Haemost*. 1999 Feb;81(2):198–202.

30. Mulpuru SK, Madhavan M, McLeod CJ, Cha YM, Friedman PA. Cardiac Pacemakers: Function, Troubleshooting, and Management. *J Am Coll Cardiol*. 2017 Jan;69(2):189–210.
31. Huppelsberg JWK. Endspurt Vorklinik: Physiologie 1. Thieme; 38–39 p.
32. Puette JA, Malek R, Ellison MB. Pacemaker. 2022.
33. Chiu-Man C. How pacemakers work and simple programming: a primer for the non-electrophysiologist. *Cardiol Young*. 2017 Jan 13;27(S1): S115–20.
34. Morschhäuser D, Fischer W. Praxis der Herzschrittmacher-Nachsorge. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. 2013.
35. Bernstein AD, Daubert J, Fletcher RD, Hayes DL, Luderitz B, Reynolds DW, et al. The Revised NASPE/BPEG Generic Code for Antibradycardia, Adaptive-Rate, and Multisite Pacing. *Pacing and Clinical Electrophysiology*. 2002 Feb; 25(2): 260–4.
36. Bernstein AD. The NASPE/BPEG pacemaker code. *Tex Heart Inst J*. 1991;18(4):299–300.
37. Lindinger A, Thomas P. EKG im Kindes- und Jugendalter. Lindinger A, Paul T, editors. Vol. 7. Stuttgart: Thieme; 2017. 257–258 p.
38. rignole M et al. 2013 ESC Guidelines on cardiac pacing and cardiac resynchronization therapy. *Eur Heart J*. 2013 Aug 1;34(29):2281–329.
39. Haas NA, Kleideiter Ulrich. Kinderkardiologie. Vol. 2. Thieme; 2018. 294–305 p.

40. Fabijanić D, Giunio L, Vujčić M, Vuković I, Ermacora R, Knezević N. Right atrial pacemaker lead thrombosis incidentally detected by transesophageal echocardiography. *Coll Antropol.* 2005 Jun;29(1):159–61.
41. Janssens U, Breithardt OA, Greinacher A. Successful Thrombolysis of Right Atrial and Ventricle Thrombi Encircling a Temporary Pacemaker Lead in a Patient with Heparin-Induced Thrombocytopenia Type II. *Pacing and Clinical Electrophysiology.* 1999 Apr;22(4):678–81.
42. Hendler A, Krakover R, Stryjer D, Schleisinger Z. A Right Atrial Mass in the Presence of a Permanent Pacemaker Electrode in a Patient with Polycythemia Vera. *Pacing and Clinical Electrophysiology.* 1991 Dec;14(12):2083–5.
43. Buttigieg J, Asciak R, Mallia Azzopardi C. Risk Factors and Prognosis for Clot Formation on Cardiac Device Leads. 2015.
44. Novak M, Dvorak P, Kamaryt P, Slana B, Lipoldova J. Autopsy and clinical context in deceased patients with implanted pacemakers and defibrillators: intracardiac findings near their leads and electrodes. *Europace.* 2009 Nov 1;11(11):1510–6.
45. Supple GE, Ren JF, Zado ES, Marchlinski FE. Mobile Thrombus on Device Leads in Patients Undergoing Ablation. *Circulation.* 2011 Aug 16;124(7):772–8.
46. Korkeila PJ, Saraste MK, Nyman KM, Koistinen J, Lund J, Juhani Airaksinen KE. Transesophageal Echocardiography in the Diagnosis of Thrombosis Associated with Permanent Transvenous Pacemaker Electrodes. *Pacing and Clinical Electrophysiology.* 2006 Nov;29(11):1245–50.
47. Haidl H, Cimenti C, Leschnik B, Zach D, Muntean W. Age-dependency of thrombin generation measured by means of calibrated automated thrombography (CAT). *Thromb Haemost.* 2006 May;95(5):772–5.

48. Lidegaard O, Nielsen LH, Skovlund CW, Lokkegaard E. Venous thrombosis in users of non-oral hormonal contraception: follow-up study, Denmark 2001-10. *BMJ*. 2012 May 10;344(may10 3):e2990–e2990.
49. Tepper NK, Whiteman MK, Marchbanks PA, James AH, Curtis KM. Progestin-only contraception and thromboembolism: A systematic review. *Contraception*. 2016 Dec;94(6):678–700.