

Aus der Klinik für Anaesthesiologie

LMU Klinikum

Direktor: Prof. Dr. med. Bernhard Zwißler

**Detektion direkter oraler Antikoagulanzen sowie gerinnungsverstärkender
Substanzen mittels Viskoelastometrie: Evaluation modifizierter Tests und
Einführung eines digitalen Entscheidungsalgorithmus**

Kumulative Habilitationsschrift

vorgelegt von

Dr. med. Philipp Groene

(2022)

Inhaltsverzeichnis

1. Bedeutung der Arbeit für das Fachgebiet
2. Hintergrund
 - 2.1. Visokoelastometrie
 - 2.2. Antikoagulation – Direkte orale Antikoagulanzen (DOAKs)
 - 2.2.1. Monitoring der DOAK-Therapie
 - 2.2.2. Blinde Flecke der plasmatischen Gerinnung
 - 2.2.3. Visokoelastometrie und DOAKs
 - 2.3. Hemmung der Fibrinolyse
 - 2.3.1. Hyperfibrinolyse und prophylaktische Hemmung der Fibrinolyse
 - 2.3.2. Detektion der (Hyper-)Fibrinolyse und Monitoring der antifibrinolytischen Therapie
3. Fragestellung
 - 3.1. Bringen modifizierte, neue visokoelastometrische Tests Vorteile bei der Detektion von DOAKs?
 - 3.2. Ermöglicht die Kombination mehrerer visokoelastometrischer Tests zudem die Differenzierung zwischen direkten oralen Antikoagulanzen und Koagulopathien anderer Genese (Marcumar, Dilution), sowie gesunden, nichtantikoagulierten Kontrollen?
 - 3.3. Kann Hypo- oder Hyperfibrinolyse durch spezifische visokoelastometrische Gerinnungsanalysen detektiert und die Effektivität einer gerinnungsstabilisierenden Therapie mittels antifibrinolytischer Substanzen (z.B. Tranexamsäure) überwacht werden?
4. Ausblick
5. Literaturverzeichnis
6. Publikationen der kumulativen Habilitationsschrift

1. Bedeutung der Arbeit für das Fachgebiet

Klinisch-tätige Ärztinnen und Ärzte sind im Rahmen der Patientenversorgung tagtäglich mit Gerinnungsstörungen konfrontiert. Ein wesentliches Teilgebiet der Anästhesiologie beschäftigt sich daher mit einem evidenzbasierten Gerinnungsmanagement. Insbesondere die Behandlung akuter Blutungen oder antikoagulierter Patienten mit dringlichen bzw. zeitkritischen Operations- bzw. Interventionsindikationen stellt eine Herausforderung dar. Neben einem grundlegenden Verständnis des komplexen Gerinnungssystems wird ein immer spezifischeres pharmakologisches Verständnis benötigt. Dies ist insbesondere von Bedeutung, da in der letzten Dekade die antikoagulatorischen und gerinnungstabilisierenden Therapien vielfältiger und mehrere Medikamente neu zugelassen wurden. Hinzu kommt, dass der Anteil an antikoagulierten Patienten zunimmt. Dies liegt zum einen an der immer älter werdenden Gesellschaft, zum anderen auch an erweiterten Indikationen für eine antikoagulatorische Therapie.

Einen Meilenstein der antikoagulatorischen Therapie stellt dabei die Einführung der direkten oralen Antikoagulanzen (DOAK) ab dem Jahr 2008 dar [15–17,41]. Mit der Einführung dieser, spezifischer in die Gerinnungskaskade eingreifenden Medikamente wurde das bis dato standardmäßig eingesetzte Marcumar als führendes Antikoagulanz in den letzten Jahren deutlich zurückgedrängt [3]. Grund hierfür ist die stabilere Pharmakokinetik, die wegfallenden Gerinnungskontrollen sowie ein verbessertes Nebenwirkungsprofil der DOAK [15–17,41]. Zudem führt der Einsatz dieser Medikamentengruppe zu einer verbesserten Compliance der Patienten, da eine gleichbleibende Dosierung eingenommen wird, eine Anpassung der Ernährung nicht notwendig ist und keine routinemäßigen Gerinnungskontrollen erfolgen.

Aufgrund der stabileren Pharmakokinetik wurde bei Markteinführung der DOAK auf die Entwicklung eines spezifischen, routinemäßig verfügbaren Gerinnungstests verzichtet und die bis dato verfügbaren, Tests wie INR (Internationalized normalized Ratio) oder aPTT (aktivierte Thromboplastinzeit) als ausreichend erachtet. Es zeigte sich jedoch schnell, dass diese die Therapie mit den DOAK nur unzureichend detektieren können [22,63]

Neben der Detektion von Antikoagulanzen stellt die Gerinnungstherapie und deren Überwachung eine weitere Herausforderung dar. In den letzten Jahren wurde die Indikation für die Gabe antifibrinolytischer Substanzen wie Tranexamsäure durch vielzählige Publikationen erweitert [19,33]. Dennoch ist auch in diesem Bereich bis heute die routinemäßige Kontrolle der Therapie nur durch klinische Beobachtung und nicht durch etablierte Messverfahren möglich. Obwohl Tranexamsäure eine große therapeutische Breite besitzt und Nebenwirkungen zahlenmäßig gering erscheinen, stellt das Fehlen von Monitoringmöglichkeiten einen weiteren blinden Fleck der Gerinnungsdiagnostik dar und birgt somit das Risiko von Fehldosierungen und komplikationsbehafteten Therapien.

Wissenschaftlich befasse ich mich daher mit der Modifikation viskoelastometrischer Testverfahren und der Etablierung neuer Algorithmen, um eine zeitnahe Detektion oraler Antikoagulanzen oder Antifibrinolytika und insbesondere deren Differenzierung gegenüber anderen Gerinnungsstörungen zu ermöglichen.

2. Hintergrund

2.1 Viskoelastometrie

Bereits in den 1950er Jahren wurde die Thrombelastographie als viskoelastisches Messverfahren von Wolfgang Hartert beschrieben [29]. Aufgrund verschiedener technischer Besonderheiten konnte sich das Verfahren zunächst nicht etablieren und geriet mehr oder weniger in Vergessenheit, bis es in den 1990er Jahren eine Renaissance erfuhr und durch technische Weiterentwicklung für den routinemäßigen klinischen Einsatz marktfähig wurde. Mittlerweile gibt es verschiedene kommerziell erhältliche Geräte, deren technische Umsetzungen geringfügige Unterschiede aufweisen, die aber immer dem gleichen Messprinzip unterliegen [29].

Bei der Viskoelastometrie handelt es sich um ein Gerinnungsdiagnostikum, das verschiedene Aspekte der Gerinnungskaskade an Vollblutproben untersucht. Es wird Citratblut verwendet, um die Aktivierung der Gerinnung nach der Blutentnahme kurzfristig zu unterbinden. In der Folge wird die Gerinnung durch verschiedene Aktivatoren je nach Fragestellung (s.u.) wieder aktiviert [29].

Bei allen Geräten gibt es ein Gefäß (Cup) für die Blutprobe und einen Stempel, der in die Blutprobe getaucht wird. Je nach Methode drehen sich nun entweder Gefäß oder Stempel um wenige Grad gegeneinander. Die für die Rotation erforderliche Kraft wird registriert und in eine graphische Kurve umgesetzt. In dem Maße, in dem das Blut nach Zugabe der Gerinnungsaktivatoren gerinnt und sich ein Gerinnsel bildet, steigt der Widerstand für die Rotation. Dies äußert sich in einer entsprechenden Veränderung der graphischen Kurve und Berechnung verschiedener Variablen.

Durch die Nutzung unterschiedlicher Aktivatoren und Zusätze ist die Analyse vielfältiger Aspekte der Gerinnungskaskade möglich. So lassen sich, dem klassischen Verständnis von extrinsischem und intrinsischem Gerinnungsweg folgend, diese Teilaspekte der Gerinnung im Speziellen untersuchen. Dies geschieht neben der Rekalzifizierung durch die Aktivierung über Tissue Factor (extrinsischer Weg) oder durch spezielle intrinsische Aktivierung (z.B. Ellagsäure). Hierdurch können Störungen in der entsprechenden Kaskade, wie ein Mangel an Vitamin K-abhängigen Gerinnungsfaktoren oder eine Heparinabgabe detektiert werden. Zudem erlaubt die Viskoelastometrie die Analyse weiterer Aspekte der Gerinnung, wie Gerinnselstabilität, Lyseresistenz, Thrombopenie, Fibrinogenmangel oder Hyperfibrinolyse. Insbesondere die schnelle Analyse der Gerinnselstabilität, gemessen anhand der Gerinnselstärke (Maximum clot firmness (MCF) oder A5-Wert) gibt Hinweise für eine möglicherweise notwendige Fibrinogensubstitution [28,47,70]. Eine lebensbedrohliche Hyperfibrinolyse kann ebenfalls innerhalb weniger Minuten diagnostiziert werden [39,42].

Die Bewertung der entsprechenden Gerinnungssituation erfolgt dabei über die Analyse verschiedener Variablen. Die Clotting time (CT) beschreibt die Zeit von der Aktivierung der Gerinnung bis zur Entstehung einer 2 mm hohen Thrombelastometrie-Kurve, die Clot formation time (CFT) die Zeit von der CT bis zur Entstehung einer 20 mm hohen Thrombelastometrie-Kurve. Diese Parameter enthalten entsprechend die Phase der Thrombingeneration. Bei den Parametern der Gerinnselfestigkeit stellen die MCF als maximale Ausprägung des Gerinnsels sowie der A5- und A10-Wert (Amplitude nach 5 bzw. 10 Minuten) die wichtigsten Messwerte dar [28,55]. A5 und A10-Werte korrelieren sehr gut mit der MCF und ermöglichen daher eine frühzeitige Abschätzung der Gerinnselfestigkeit. Anhand dieser Werte lassen sich Fibrinogenstatus und das Vorhandensein bzw. Fehlen von Thrombozyten abschätzen. Während plasmatische Gerinnungstests (z.B. INR oder aPTT) lediglich den Beginn der Gerinnselfestigkeit abbilden, ermöglicht die Viskoelastometrie eine weiterreichende funktionelle Analyse über den Verlauf und insbesondere das Endprodukt der Gerinnungskaskade, also das Gerinnsel selbst.

Ein weiterer Vorteil liegt in der Schnelligkeit der Analyse. Benötigen plasmatische Gerinnungstests, abhängig von der internen labormedizinischen Logistik, einen zeitlichen Aufwand von etwa 1 Stunde, liefert die Viskoelastometrie nach circa 10 Minuten die wichtigsten Ergebnisse [8,27,55,77]. Dieser Aspekt, kombiniert mit der beschriebenen Möglichkeit zur gezielten Beantwortung spezifischer Fragestellungen, führte dazu, dass eine spezifische Gerinnungstherapie früher eingeleitet werden kann. Dies führt wiederum zu einer Abnahme der Transfusion allogener Blutprodukte bei Traumapatienten sowie verschiedenen chirurgischen Kollektiven und einem verbesserten Überleben [69,82].

Zusammenfassend ermöglicht die Viskoelastometrie eine bettseitige und innerhalb weniger Minuten durchführbare differenzierte Diagnostik von Gerinnungsstörungen.

Unklar und daher zentraler Bestandteil meiner Arbeiten, war jedoch, ob auch der Einfluss von DOAK auf die Gerinnung mittels Thrombelastometrie detektiert werden können.

2. 2 Antikoagulation – Direkte orale Antikoagulanzen

Bis vor wenigen Jahren stellten unfractionierte oder niedermolekulare Heparine im periinterventionellen Bereich sowie der Vitamin K Antagonist Marcumar in der langfristigen Therapie die wichtigsten Antikoagulanzen dar [3]. Indikationen für die Antikoagulation waren insbesondere Vorhofflimmern, Herzklappenersatz sowie Therapie und Prophylaxe von Thrombosen. Gerade bei langfristiger Therapie mit Marcumar gibt es jedoch einen großen organisatorischen Aufwand durch regelmäßige Gerinnungskontrollen mittels INR sowohl für die Patienten als auch die betreuenden Behandler. Zudem müssen die Patienten ihre Ernährung anpassen, da es durch die übermäßige Aufnahme von Vitamin K zur negativen Beeinflussung der Therapie kommen kann [61]. Auch die zum Teil täglich wechselnde Dosierung kann, gerade bei älteren Patienten, zu Compliance-Problemen und Fehldosierungen mit entsprechender Über- oder Untertherapie führen.

Mit der Einführung der direkten oralen Antikoagulanzen (direkte FXa-Inhibitoren oder direkte Thrombininhibitoren (DTI)), die spezifisch in die Gerinnungskaskade eingreifen, sollten diese Probleme verbessert werden [15–17,41]. In den Zulassungsstudien zeigte sich eine erhöhte Patientensicherheit durch eine große therapeutische Breite, die mit weniger spontanen, vor allem zerebrale, Blutungen und einherging. Auch das Auftreten schwerer, lebensbedrohlicher Blutungen war reduziert. Gastrointestinale Blutungen traten jedoch vermehrt auf [34,35]. Die Wirksamkeit bei der Verhinderung von Schlaganfällen und thrombembolischen Ereignissen war vergleichbar zur Marcumartherapie. Aufgrund dieser Erkenntnisse und der vereinfachten Handhabung durch feste Dosierungsschemata und die wegfallenden routinemäßigen Gerinnungskontrollen bei stabilerer Pharmakokinetik revolutionieren DOAKs die antikoagulatorische Therapie.

Aktuell sind in Deutschland vier Präparate (Dabigatran, Rivaroxaban, Apixaban und Edoxaban) zugelassen. Die Indikationen für die Präparate haben sich im Lauf der Jahre erweitert und umfassen (je nach Präparat) die Primärprävention von Thrombembolien nach Knie- und Hüftgelenksersatz, die Behandlung von Patienten mit nicht-valvulärem Vorhofflimmern sowie Therapie und Sekundärprophylaxe venöser Thrombosen und der Lungenarterienembolie [9,78]. Zunehmend wird Rivaroxaban auch bei kardialen und gefäßchirurgischen Patienten zur Prävention weiterer atherothrombotischer Ereignisse eingesetzt [14].

Die Verschreibungshäufigkeit nimmt dabei stetig zu und der Anteil antikoagulierter Patienten unter Therapie mit einem DOAK übersteigt den Anteil der mit Marcumar therapierten Patienten mittlerweile deutlich.

2.2.1 Überwachung der Therapie mit DOAKs – Warum und wie bisher?

Aufgrund der stabileren Pharmakokinetik und hohen therapeutischen Breite wurde bei Einführung der DOAKs auf spezifische Gerinnungstests zur Messung der DOAK-Plasmakonzentration verzichtet. Dies war ein deutlicher Fortschritt im Gegensatz zu Marcumar und Heparin, für deren Überwachung INR bzw. Quick-Wert und die aPTT verwendet werden mussten. Es bestand zu diesem Zeitpunkt kein Bewusstsein für die Relevanz DOAK-spezifischer Gerinnungstests, da man aufgrund der stabilen Pharmakokinetik die Bestimmung von Plasmakonzentration für nicht erforderlich hielt [74,75]. Erst mit zunehmendem Einsatz dieser Substanzklasse bemerkte man die Notwendigkeit, in Notfallsituationen (z.B. akute Blutung, Schlaganfall) oder vor dringlichen Interventionen (z.B. Endoskopien, Bronchoskopien, Gefäßinterventionen) durchaus eine möglicherweise noch relevante DOAK-Plasmakonzentration messen zu können. So empfehlen zunehmend Leitlinien die Messung der Plasmakonzentration vor Anlage rückenmarksnaher Anästhesieverfahren oder vor Lyse bei Schlaganfall unter mutmaßlicher DOAK-Therapie. Auch Patienten, die nicht in der Lage sind, die eingenommene Medikamentenklasse und deren letzten Einnahmezeitpunkt zu nennen, stellen eine Herausforderung dar. Die Kenntnis, ob und welches Antikoagulanzen eingenommen wurde, ist relevant, denn nur so kann eine geeignete, spezifische Therapie eingeleitet werden. Es existieren viele Bereiche, in denen diese

Fragestellung aufkommen kann. Nicht nur der Traumapatient mit lebensbedrohlicher Blutung bedarf einer Kombination aus chirurgischer Blutstillung und Gerinnungstherapie, insbesondere neurochirurgische/neurologische Patienten mit eingeschränkten interventionellen Möglichkeiten benötigen spezifische hämostaseologische Therapien [4]. Hierfür muss jedoch bekannt sein, ob eine medikamentöse Antikoagulation überhaupt vorliegt. Ebenso muss eine DOAK-Einnahme bei ischämischen Hirninfarkten vor einer Lyse bekannt sein und ggf. antagonisiert werden [4].

Dies ist zunehmend relevant, da seit kurzem spezifische Antagonisten für IIa-Antagonisten bzw. Xa-Antagonisten (Idarucizumab und Andexanet alfa) eingeführt wurden. Deren Einsatz hängt von der Kenntnis der eingenommenen Substanz und der Plasmakonzentration ab [6,59,60]. Dies ist sowohl aus klinischer Sicht für den Erfolg der Therapie aufgrund der Spezifität der beiden Substanzen als auch aus wirtschaftlicher Sicht wegen der immensen Kosten von Bedeutung.

2.2.2 Blinde Flecke der plasmatischen Gerinnung

Zu Beginn des DOAK-Zeitalters standen nur die etablierten plasmatischen Gerinnungstests (INR, aPTT) zur Verfügung, die jedoch häufig falsch negative Ergebnisse lieferten und nach wie vor keinen Rückschluss auf die DOAK-Plasmakonzentration erlauben [23,62,63]. Das tatsächliche Ausmaß der Gerinnungshemmung durch DOAKs bleibt somit unklar bzw. nicht sicher messbar. Auch Metaanalysen der mittlerweile zahlreich erschienenen Studien zu diesem Thema zeigen, dass die klassischen plasmatischen Gerinnungstests nicht geeignet sind, eine DOAK-Therapie zu überprüfen [22,23].

Es lässt sich lediglich über die Thrombin- oder die Ecarinzeit eine Therapie mit dem direkten Thrombininhibitor (z.B. Dabigatran) ausschließen [10]. Ein Rückschluss auf die Plasmakonzentration gelingt mit diesem Test jedoch ebenfalls nicht. Daher wurden spezifische Labortests entwickelt, um FIIa- und FXa-Inhibitoren (Rivaroxaban, Apixaban, Edoxaban) zu monitoren. Diese auf die jeweilige Substanz kalibrierten Anti-Xa Tests ermöglichen die Berechnung der Plasmakonzentration. Jedoch zeigen auch hier einzelne Studien, dass insbesondere im Bereich niedriger Plasmakonzentrationen die Testergebnisse eine große Streubreite aufweisen [12,13,44,46,58]. Zudem ist bisher nicht untersucht, ab welchem Cut-off-Wert es zu vermehrten Blutungen kommt und in welchem Bereich sicher operiert werden kann. In neuen Leitlinien wird für die Anlage rückenmarksnaher Anästhesieverfahren oder für die Lyse bei Schlaganfall unter DOAKs ein Cut-off-Wert von 30ng/ml für FXa-Inhibitoren bzw. eine Thrombinzeit <60s gefordert. Die Sicherheit dieser praktischen Empfehlung, insbesondere im Bereich der Schlaganfallbehandlung, wurde bisher nicht klinisch getestet und beruht lediglich auf einzelnen kleinen Studien und Empfehlungen [2,4]. Weitere Nachteile sind die Dauer bis zum Vorliegen des Ergebnisses und die fehlende durchgängige Verfügbarkeit in vielen Laboratorien. Hinzu kommt, dass diese Tests ausschließlich dann einsetzbar sind, wenn die eingenommene Substanz bekannt ist. Damit eignen sie sich nur eingeschränkt für Notfallsituationen. Daher habe ich mich im Rahmen meiner Forschung mit einem Verfahren zur bettseitigen Diagnostik von DOAKs mittels Viskoelastometrie beschäftigt.

2.2.3 Viskoelastometrie und DOAKs

Mit der Erkenntnis, dass plasmatische Gerinnungstests nur eingeschränkt zur DOAK-Detektion nutzbar sind, rückte dies Viskoelastometrie zunehmend in den Fokus der Forschung. Hierzu wurden die viskoelastometrischen Standardtests, die den extrinsischen oder intrinsischen Gerinnungsweg (z.B. EXTEM und INTEM, TEM Innovations GmbH, München, Deutschland) oder auch die Gerinnselstabilität (z.B. FIBTEM, TEM Innovations GmbH, München, Deutschland) evaluieren, eingesetzt [21,32,71,76]. Diese Arbeiten zeigen, dass die Standardthrombelastometrie, ebenso wie plasmatische Gerinnungsvariablen, nicht zur Detektion von DOAKs geeignet ist [5,21,71,76]. Je nach Substanz (vornehmlich Apixaban) kann es selbst unter sehr hohen Plasmakonzentrationen zu Testergebnissen im Normbereich kommen und damit die DOAK-Einnahme nicht erkannt werden. Auch gelingt mit diesen Tests keine Differenzierung der beiden DOAK-Substanzklassen (FXa-Inhibitoren und direkte Thrombininhibitoren).

Daher habe ich mich im Rahmen der hier vorliegenden Habilitationsarbeit mit der Weiterentwicklung thrombelastometrischer Testverfahren beschäftigt. Dabei geht es einerseits um globale Tests zur Differenzierung von Hypo- und Hyperfibrinolyse, also einem Zustand verminderter/eingeschränkter Lyse mit ggf. erhöhter Thromboseneigung und einem Zustand verstärkter Lyse mit Blutungsneigung. Insbesondere werden in dieser Arbeit modifizierte Tests vorgestellt, mit denen DOAK detektiert und FXa- und FIIa-Antagonisten untereinander differenziert werden können.

2.3 Hemmung der Fibrinolyse

2.3.1 Hyperfibrinolyse und prophylaktische Hemmung der Fibrinolyse

Hyperfibrinolyse ist eine häufige Gerinnungsstörung bei polytraumatisierten Patienten und bestimmt maßgeblich den weiteren klinischen Verlauf [38,42,68]. Seit Jahren hat sich in diesem Setting die Therapie mit Tranexamsäure (TXA) etabliert und Eingang in die entsprechenden Leitlinien zur Versorgung Schwerverletzter/polytraumatisierter Patienten gefunden [33]. Die Empfehlungen basieren auf großen klinischen Studien wie der CRASH-2 Studie, in der ein Überlebensvorteil für Patienten unter antifibrinolytischer Therapie gezeigt werden konnte [52,80,81].

Nicht nur bei der Versorgung schwerverletzter Patienten, sondern auch im perioperativen Setting wird Tranexamsäure seit Jahren während akuter Blutungen, aber auch zunehmend prophylaktisch, insbesondere im Bereich der Kardiochirurgie und der Unfallchirurgie/Orthopädie, verabreicht. [19,72]. Die Therapie beruht auf den Erkenntnissen mehrerer Studien, die belegen konnten, dass durch die Gabe von TXA der Blutverlust und auch die Transfusionsrate allogener Blutprodukte deutlich gesenkt wurden [18–20,31,72]. Mittlerweile haben sich die entsprechenden Fachgesellschaften dahingehend positioniert und empfehlen die prophylaktische Gabe von TXA [19,72].

Bis heute sind jedoch die Applikationswege (p.o. versus i.v. versus lokal; als Bolus oder kontinuierlich) wie auch die genauen Dosierungen nicht detailliert untersucht. Aufgrund der in der CRASH-2-Studie

verabreichten Dosis von 1g über 10min und folgender kontinuierlicher Infusion über 8h wird dieses Schema auch weiterhin empfohlen [80]. Im perioperativen Setting wird zumeist 1g TXA empfohlen. Auch wird bisher keinem Applikationsweg im perioperativen Bereich der Vorzug gegeben [19]. Inwieweit

2.3.2 Detektion der (Hyper-)Fibrinolyse und Monitoring der antifibrinolytischen Therapie

Bestätigt werden kann eine Hyperfibrinolyse tatsächlich nur mittels Visokoelastometrie [42,68]. Hier zeigt sich eine verstärkte und meiste frühe Lyse, also eine übermäßige Auflösung des Gerinnsels. Durch Nutzung von Testreagenzien, die Aprotinin oder TXA enthalten (z.B. APTEM, TEM Innovations GmbH, München, Deutschland) kann in-vitro überprüft werden, ob eine entsprechende Therapie die Hyperfibrinolyse in-vivo hemmt. Die Thrombelastometrie hat also doppelten Wert insofern, als eine Hyperfibrinolyse detektiert (Diagnostik) und die potentielle in vivo-Wirksamkeit von TXA zuvor in-vitro geprüft werden kann (Therapie).

Im Gegensatz hierzu kann eine Hypofibrinolyse, also eine unzureichende spontane Lyse, nicht detektiert oder die Wirksamkeit einer antifibrinolytischen Therapie überwacht werden. Bisher gibt es nur wenige Studien, die sich mit der genauen, klinisch wirksamen Dosierung von TXA auseinandersetzen [43,54,73]. Hier werden mittels Ultra-High Performance Liquid Chromatography/ Mass Spectrometry (UHPLC-MS/MS) gemessene Plasmakonzentrationen von 15-20 µg/ml als wirksam erachtet. Diese Messverfahren sind für den perioperativen Einsatz aufgrund des technischen Aufwands ungeeignet. Obwohl TXA eine große therapeutische Breite besitzt, sind Nebenwirkungen nicht auszuschließen. Im Bereich hoher Dosierungen (v.a. in der Kardiochirurgie verwendet) kann es zum Auftreten von zerebralen Krampfanfällen kommen [45,83]. Aufgrund der antifibrinolytischen Wirkung wird immer wieder die Sorge von thrombotischen Komplikationen geäußert.

Insofern wäre ein Diagnostikum wünschenswert, welches dem Behandler eine zeitnahe Überprüfung der Therapie ermöglicht und diejenigen Patienten identifiziert, die eine Hypofibrinolyse und somit ggf. ein erhöhtes Thromboserisiko aufweisen. Point-of-Care Diagnostik war bisher nur in experimentellen Ansätzen möglich und daher als standardisiertes Verfahren nicht einsetzbar [11,39,40]. Diese Habilitationsarbeit zeigt auch in diesem Bereich den Nutzen neuer viskoelastometrischer Testverfahren, um die Fibrinolyseaktivität und deren medikamentöse Inhibition zu untersuchen.

3. Fragestellung

3.1 Bringen modifizierte, neue viskoelastometrische Tests Vorteile bei der Detektion von DOAKs?

Aufgrund der limitierten Möglichkeiten der Detektion von DOAKs durch viskoelastometrische Standardtests ist die Modifikation von Testreagenzien wissenschaftlich relevant [21,71,76]. Daher habe ich neue Testverfahren untersucht. Grundidee war es die Detektionsrate gegenüber den Standardverfahren zu erhöhen und spezifische Tests zu entwickeln.

In einer ersten in-vitro Versuchsreihe verglichen wir zunächst für das weit verbreitete ROTEM[®] die Funktionsfähigkeit zweier neuer Testverfahren gegenüber den Standardtests (TEM Innovations GmbH, München, Deutschland).

Der erste neue Test, ein low-tissue-factor Test (TFTEM), gleicht dem für die Evaluation des extrinsischen Gerinnungsweges vorhandenen EXTEM. Unterschied ist eine Reduktion des Tissue Factors (TF) um 90%. Dahinter liegt die Idee, dass durch die damit verbundene geringere Gerinnungsaktivierung Antikoagulantien sensitiver detektierbar sein könnten.

Der zweite untersuchte Test beinhaltet das Schlangengift Ecarin. Ecarin wandelt Prothrombin in Meizothrombin um. Dieses wiederum katalysiert die Umwandlung von Fibrinogen zu Fibrin. Meizothrombin kann wie Thrombin durch direkte Thrombininhibitoren gehemmt werden. Hervorzuheben ist, dass Veränderungen der Aktivität der, in der Gerinnungskaskade, vorgeschalteten Gerinnungsfaktoren (z.B. Faktor V oder X) den Test nicht beeinflussen. Dieser sollte somit spezifisch direkte Thrombininhibitoren detektieren können.

In der ersten Studie haben wir die Funktionsfähigkeit der neuen Testsysteme an jeweils einem Medikament beider Substanzklassen (FXa-Inhibitoren und DTI) evaluiert. Hierzu haben wir Rivaroxaban und Dabigatran verwendet, da dies die ersten verfügbaren DOAKs waren. Es wurden Dosis-Wirkungs-Beziehungen beider Substanzen anhand von Blutproben 10 gesunder Probanden ohne Einnahme gerinnungsbeeinflussender Medikamente evaluiert. Diese Blutproben wurden mit aufsteigenden Konzentrationen der jeweiligen Substanzen versetzt (0; 31,25; 62,5; 125; 250; 500 ng/ml). Dies entspricht einem breiten Konzentrationsbereich von sub- bis supratherapeutischen Dosierungen. Bei jeder Konzentration erfolgte die Messung der thrombelastometrischen Standard- und der neuentwickelten bzw. modifizierten Tests. Zudem erfolgte jeweils die Messung der plasmatischen Gerinnungsvariablen.

Wichtig ist, dass Standardtests zum Teil erst bei supratherapeutischen Dosierungen Veränderungen zeigen, diese also insensitiv sind. Insbesondere bei niedrigen, therapeutischen Plasmakonzentrationen lag die Gerinnungszeit, die sogenannte Clotting time (CT) im Normalbereich, obwohl eine relevante DOAK-Plasmakonzentration vorlag. Hinter der CT verbirgt sich die Aktivität der einzelnen Gerinnungsfaktoren, diese werden durch Antikoagulantien beeinflusst und daher stellt die CT einen wichtigen Parameter zur Beurteilung des Ausmaßes der Antikoagulation dar.

In Abbildung 1 ist der Einfluss von Dabigatran und Rivaroxaban auf die modifizierten Tests ECATEM und TFTEM dargestellt.

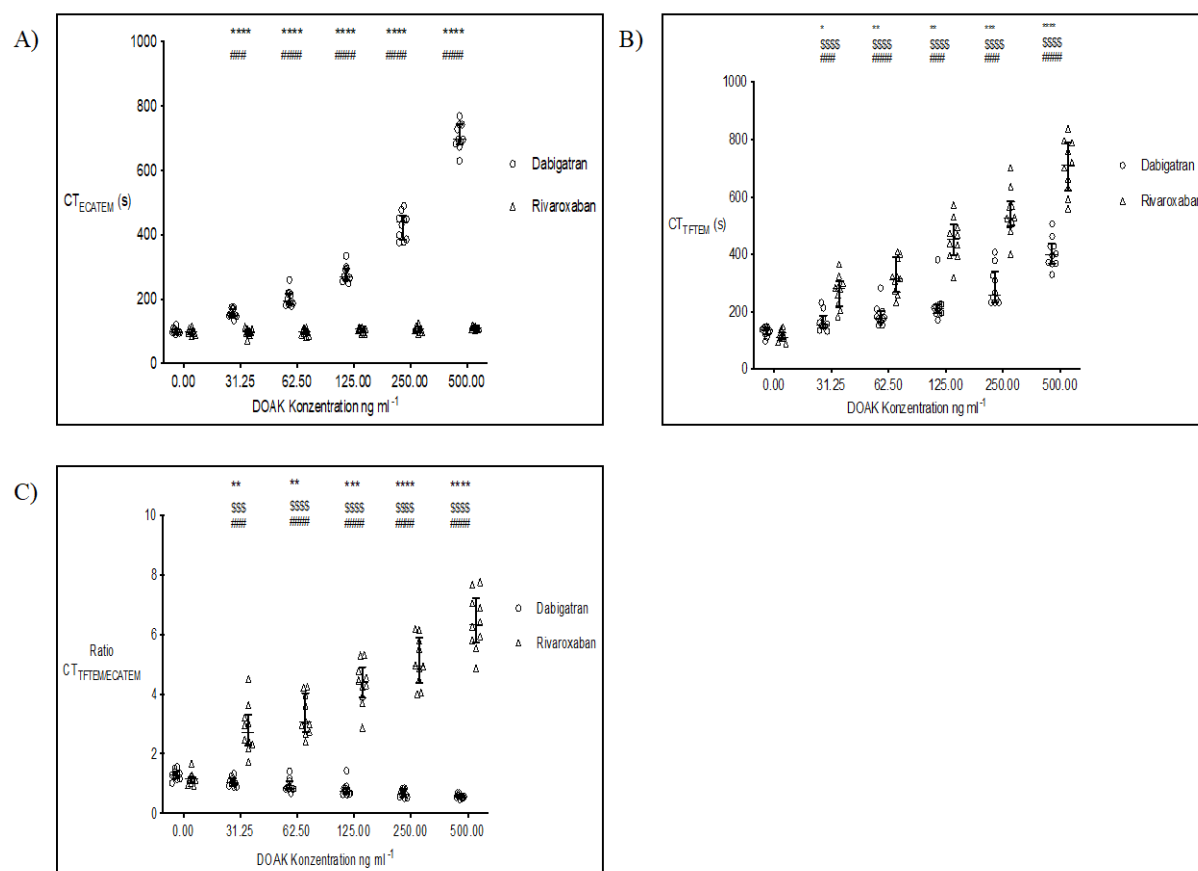


Abb. 1: In-vitro, Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen Plasmakonzentration von Dabigatran und Rivaroxaban mit Clotting Time (CT) A) im ecarin-basierten Test (ECATEM) und B) low-tissue-factor Test (TFTEM) und C) die Ratio aus TFTEM und ECATEM. (Median + IQR; n=10)

* $p < 0.05$, * $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$;

* vs. Baseline (Dabigatran); § vs. Baseline (Rivaroxaban); # zwischen beiden DOAKs bei derselben Konzentration

Entnommen und übersetzt von [65] mit der Genehmigung von Elsevier

Die Ergebnisse zeigen, dass der Ecarin-basierte Test (ECATEM) spezifisch für Dabigatran ist (Abb. 1A). Es kam zu einer konzentrationsabhängigen Verlängerung der CT durch Dabigatran, während die CT durch Rivaroxaban unverändert blieb. (Abb. 1A). Es zeigte sich zudem eine starke Korrelation zwischen CT_{ECATEM} und Dabigatran Konzentration ($r=0.9985$; $p<0.001$). Im low-tissue-factor Test kam es zu einer Verlängerung der CT durch beide Substanzen, mit absolut höheren Werten für Rivaroxaban (Abb. 1B). Sensitivität und Spezifität für die Detektion von DOAKs lagen im TFTEM-Test bei 100% bzw. 98%. Im Vergleich zu den Standardtests war die Detektion, insbesondere von Rivaroxaban, bei geringen Plasmakonzentrationen deutlich verbessert. Eine Differenzierung beider DOAK-Klassen war alleinig mit dem TFTEM, aufgrund der geringen Spezifität, nur unzureichend möglich (Sensitivität 92%; Spezifität 66%). Die Kombination beider Testverfahren, also die Bildung des Quotienten der CT-Werte (Ratio der CT_{TFTEM/ECATEM}) ermöglichte die Differenzierung beider Substanzklassen mit hoher Sensitivität und Spezifität (Sensitivität 100% und Spezifität 100%; Abb. 1C).

Die Ergebnisse dieser ersten in-vitro Studie zeigten eine verbesserte Detektion und erstmalig eine mögliche Differenzierung der direkten oralen Antikoagulanzen durch die neuentwickelten thrombelastometrischen Tests ECATEM und TFTEM in-vitro [65].

Im zweiten Schritt setzten wir erneut modifizierte ECATEM und TFTEM Tests ein. Diese beinhalteten zusätzlich pegylierten FXa bzw. pegylierten FIIa. Diese fungieren als Inhibitoren der Antikoagulanzen und reversieren somit die antikoagulatorische Wirkung von DOAKs in-vitro. Im Vergleich zu Blutproben mit Dabigatran- bzw. Rivaroxabanzusatz normalisierte sich nach Zugabe des pegylierten FXa bzw. FIIa die CT in ECATEM bzw. TFTEM. Hierdurch war es einerseits möglich zu zeigen, dass die in der ersten Versuchsreihe gemessene Verlängerung der CT tatsächlich durch die Antikoagulanzen zustande kam, andererseits stellt dies eine weitere Methode zur Detektion der DOAKs dar. Nachteil dieser Methode ist, dass man beide Testverfahren einsetzen muss, wenn die eingenommene Substanz unbekannt ist, somit also bereits vier Messkanäle allein für diese Fragestellung benötigt werden. Aufgrund der limitierten Anzahl an Testkanälen des ROTEM Geräts (aktuell 4) könnten weitere Fragestellungen erst nachfolgend untersucht werden. Damit stellt diese Variante zwar eine funktionell gute Methode dar, für den klinischen Alltag scheint sie aber zunächst aus praktischer und wirtschaftlicher Sicht ungeeignet [65].

Parallel zu den vorgenannten Ansätzen untersuchten wir auf einem alternativen viskoelastometrischen Gerät (ClotPro, enicor GmbH, München, Deutschland) einen weiteren Weg, insbesondere die FXa-Inhibitoren zu detektieren. Hierzu nutzten wir einen Russel-Viper-Venom-basierten Test (RVV-Test). Ähnliche Verfahren sind aus dem Bereich der Testung des Lupus-Antikoagulant bereits seit mehreren Jahren bekannt [50]. Im RVV-Test kommt es zu einer Gerinnungsaktivierung durch das Schlangengift der Kettenviper (*Daboia Russellii*) über eine direkte Interaktion mit FX und FV [50]. In diesem Mechanismus liegt die Idee, dass es so zu einer spezifischeren Detektion der FXa-Inhibitoren kommt. Zudem konnten wir auch hier einen Ecarin-basierten Test (ECA-test), vergleichbar dem ECATEM, für die DTIs evaluieren.

Ebenfalls in einem in-vitro Modell wurde beim ClotPro-Gerät der Einfluss der direkten oralen Antikoagulanzen Dabigatran und Edoxaban als Stellvertreter der beiden DOAK-Substanzklassen auf die viskoelastometrischen Standardtests (z.B. EX-test, IN-test; ClotPro, enicor GmbH, München) sowie den RVV-test und den ECA-test untersucht. Auch hier wurden zunächst Dosis-Wirkungs-Beziehungen jeweils beider Substanzen in den jeweiligen Testen evaluiert. Es wurden Proben zehn gesunder Probanden ohne Einnahme gerinnungsbeeinflussender Substanzen mit aufsteigenden Konzentrationen der jeweiligen Substanz (0; 31,25; 62,5; 125; 250; 500 ng/ml) versetzt. Bei jeder Konzentration erfolgte die Messung der viskoelastometrischen Standardtests und der neu-entwickelten Tests. Zudem erfolgte jeweils die Messung der plasmatischen Gerinnung.

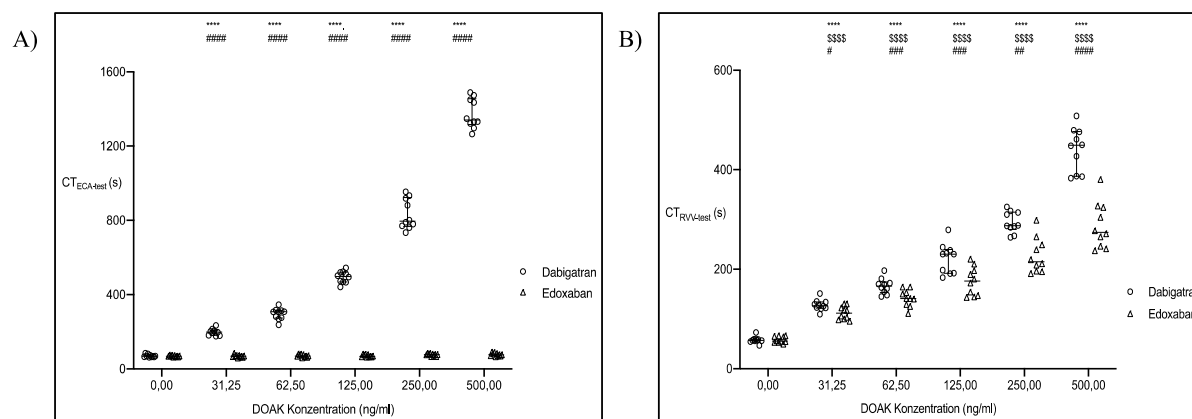


Abb. 2: In-vitro, Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen Plasmakonzentration von Dabigatran und Edoxaban mit Clotting Time (CT)

A) im ecarin-basierten Test (ECA-Test) und B) Russel-Viper-Venom Test (RVV-Test). (Median + IQR; n=10)

* $p < 0.05$, * $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$;

* vs. Baseline (Dabigatran); \$ vs. Baseline (Edoxaban); # zwischen beiden DOAKs bei derselben Konzentration

Wir konnten, vergleichbar zum ROTEM-Versuchsaufbau, die Spezifität des Ecarin-basierten Tests für Dabigatran bestätigen (Abb. 2A). Es zeigte sich erneut eine konzentrationsabhängige Verlängerung der CT, während es durch Edoxaban zu keiner Prolongation kam (Abb. 2A). Der RVV-Test führte zu einer Verlängerung der CT durch beide Substanzklassen, mit stärkerer Ausprägung durch Edoxaban (Abb. 2B). Im Vergleich zu den Standardtests kann Edoxaban in niedrigen Plasmakonzentrationen mit Hilfe der Viskoelastometrie sensitiver detektiert werden.

Zusammenfassend konnten wir in diesen beiden Versuchsansätzen zeigen, dass die Nutzung modifizierter bzw. neuer viskoelastometrischer Testverfahren die Detektion der DOAKs ermöglicht. Eine Differenzierung scheint nach diesen ersten Versuchen, insbesondere für den DTI Dabigatran durch den spezifischen Ecarin-basierten Test möglich. Die Nutzung und Kombination zweier Testverfahren hilft, zwischen den Substanzklassen zu differenzieren.

Im anschließenden Schritt folgte eine ex-vivo Evaluation der Tests an Patientenproben. Hierzu wurde die Funktionsweise der beiden ROTEM-Tests TFTEM und ECATEM sowie der thrombelastometrischen Standardtests an Blutproben von neurologischen Patienten, die neu auf Dabigatran oder Rivaroxaban eingestellt worden waren, evaluiert [65]. Somit erhielten wir Proben mit subtherapeutischer und therapeutischer Plasmakonzentration und konnten die Fähigkeit der Tests, niedrige Plasmakonzentrationen zu detektieren, evaluieren. In diesem Projekt wurden 10 Patienten pro Substanz eingeschlossen. Messungen sowohl thrombelastometrischer als auch plasmatischer Gerinnungstests erfolgten zu vier Zeitpunkten: 1.) vor der erstmaligen Einnahme, 2.) zur erwarteten Plasmaspitzenkonzentration nach drei Stunden, 3.) 24 Stunden nach der ersten Messung im Talspiegel vor Einnahme der nächsten Tablette und 4.) erneut zum erwarteten Spitzenspiegel drei Stunden hiernach.

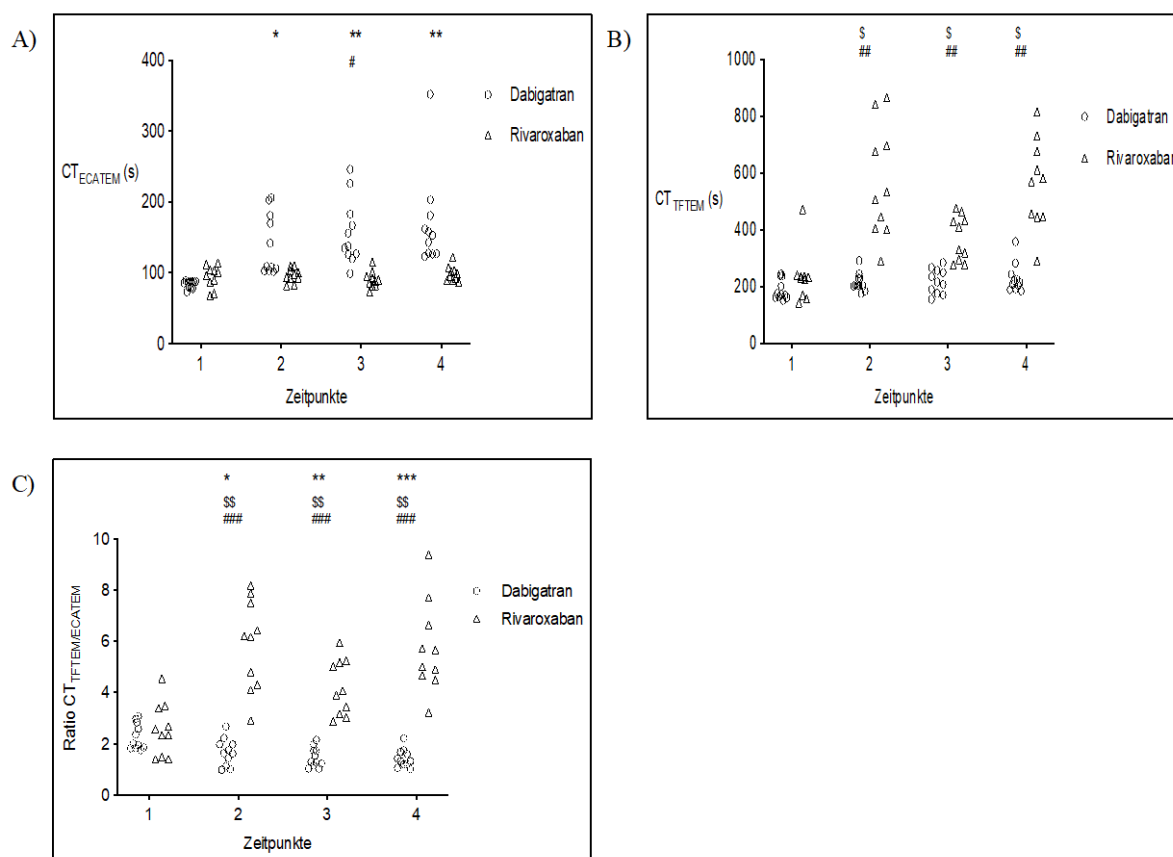


Abb. 3: Ex-vivo Messung des Einflusses von Dabigatran und Rivaroxaban auf die Clotting Time (CT) A) im ecarin-basierten Test (ECATEM), B) low-tissue-factor Test (TFTEM) und C) Ratio aus CT TFTEM/ECATEM. Zeitpunkte der Messung: 1 = vor Beginn der Therapie; 2 = erwarteter Spitzenspiegel nach erster Einnahme; 3 = Talspiegel 24h nach erster Messung vor Einnahme der nächsten Tablette; 4 = drei Stunden nach Zeitpunkt 3. (Median + IQR; n=10)

* $p < 0.05$, * $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$;

* vs. Baseline (Dabigatran); \$ vs. Baseline (Rivaroxaban); # zwischen beiden DOAKs bei derselben Konzentration

Entnommen und übersetzt von [65] mit der Genehmigung von Elsevier [65]

Die ex-vivo Ergebnisse bestätigten die Ergebnisse der in-vitro Studien: Es kam zu einem ausgeprägten Anstieg der CT im Ecarin-basierten ECATEM-Test nach Beginn der Dabigatrantherapie (Abb. 3A). Ebenfalls wurde der low-tissue-factor Test TFTEM durch Dabigatran, im Sinne einer Verlängerung der CT, beeinflusst (Abb. 3B). Bereits nach Einnahme der ersten Dabigatrantablette war eine Verlängerung der CT im ECATEM-Test sichtbar. Wichtig ist, dass der „klassische“ kalibrierte, im Zentrallabor mittels HEMOCLOT™ Thrombin Inhibitors durchgeführte, Anti-IIa-Test zu diesem Zeitpunkt falsch negativ war. Auch die Thrombinzeit zeigte hier variable Ergebnis und war im Median mit 35s (24/113) nur mäßig verlängert. Über den ECATEM-Test lässt sich somit eine Dabigatranwirkung durch eine normwertige CT ausschließen.

Nach Beginn der Rivaroxabantherapie kam es zu einer Verlängerung der CT im TFTEM-Test (Abb. 3B). Eine Beeinflussung der CT ECATEM fand nicht statt. (Abb. 3A). Die im in-vitro Versuchsaufbau identifizierte Ratio aus CT TFTEM/ECATEM war auch hier in der Lage zwischen Dabigatran und Rivaroxaban zu differenzieren.

Wichtig ist, dass diese Differenzierung bereits nach Einnahme der ersten Tablette (Abb. 3C; Zeitpunkt 2), also bei sehr geringen Plasmakonzentrationen, gelang.

Des Weiteren haben wir Patientenprobe auch mittels der modifizierten viskoelastometrischen Tests ECA-test und RVV-test des ClotPro Systems untersucht [26]. Hierzu wurden Proben von Patienten verwendet, die seit mindestens sieben Tagen auf eines der DOAKs eingestellt waren oder andere orale Antikoagulanzen (z.B. Marcumar) eingenommen haben. Die Proben wurden bewusst unabhängig vom letzten Einnahmezeitpunkt abgenommen, um variable Plasmakonzentrationen analysieren zu können. Dies simuliert zudem den klinischen Alltag, an dem die Patienten zu jedem Zeitpunkt bezogen auf Spitzen- und Talspiegel während der Therapie potentiell notfallmäßig vorstellig werden. Zusätzlich wurden in dieser Studie auch Proben von Patienten mit Marcumar-, unfraktionierter Heparin- und niedermolekularer Heparintherapie evaluiert. Pro Substanz wurden zehn Patienten eingeschlossen. Bei jeder Probe wurden Blutbild, plasmatische Gerinnung und die viskoelastometrischen Tests gemessen.

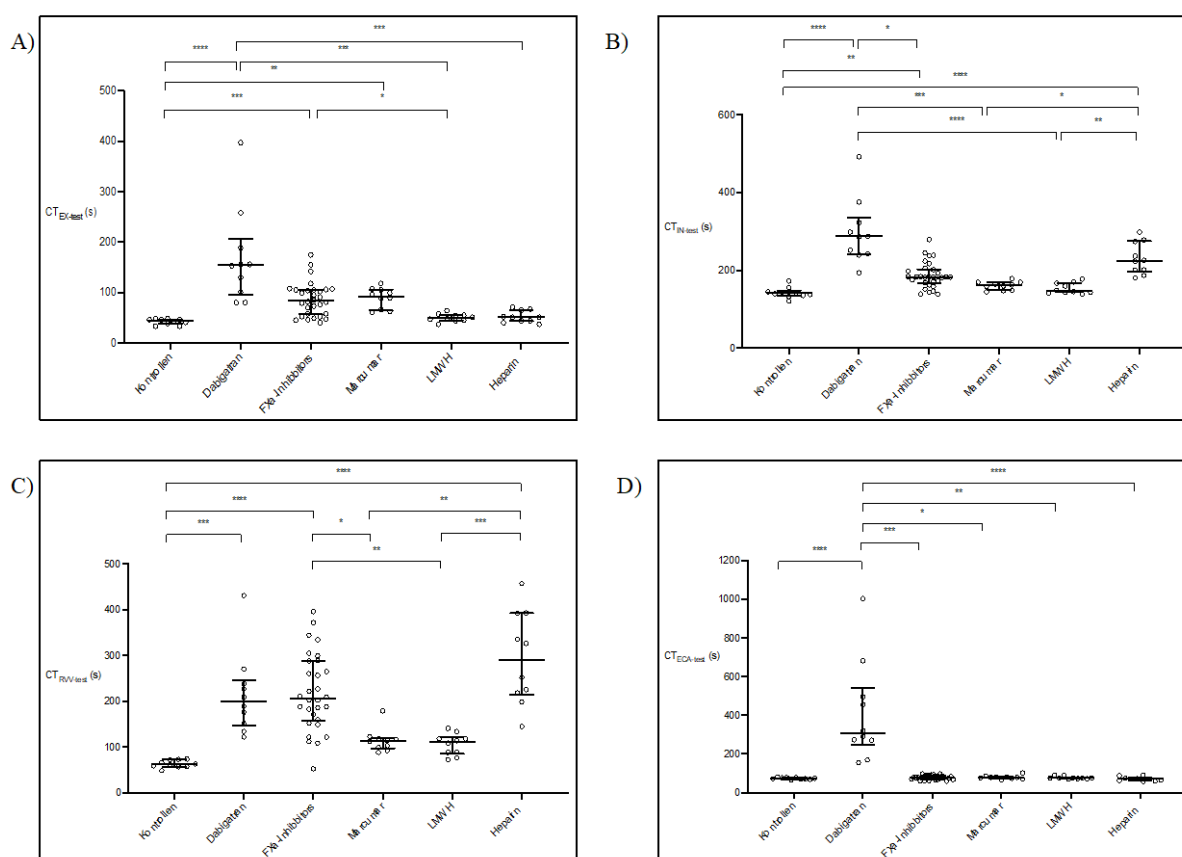


Abb. 4: Ex-vivo Messung des Einflusses verschiedener Antikoagulanzen auf die Clotting Time (CT) im A) EXT-Test, B) In-Test, C) Russell-Viper-Venom Test (RVV-Test) und D) ecarin-basierten Test (ECA-Test). Einmalige Messung unabhängig vom Einnahmezeitpunkt. (Median + IQR)

* $p < 0.05$, * $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$; Entnommen von [26] mit der Genehmigung von BMC/Springer Nature

In den viskoelastometrischen Standardtests des ClotPro kam es durch mehrere der getesteten Substanzen zwar zu Veränderungen, ohne aber spezifische Muster für die einzelnen Substanzklassen erkennen zu lassen. (Abb. 4) So zeigte sich bspw. im EX-Test eine ausgeprägte Verlängerung der CT durch Marcumar, teilweise aber auch durch FXa-Inhibitoren. Damit lässt sich unspezifisch zwar eine Beeinflussung der Gerinnung nachweisen, deren Ursache ist durch diesen Test allein, aber nicht erkennbar; die sichere Differenzierung zwischen den Substanzklassen ist folglich nicht möglich.

Als weiterer relevanter Aspekt dieses Versuchsaufbaus ergab sich, dass speziell Apixaban in den Standardtests erst in sehr hohen Konzentrationsbereichen zu einer Verlängerung der CT führt (niedrigere, klinisch relevante Dosierungen werden durch diese Tests somit nicht nachgewiesen). Dieser Aspekt bestätigt damit Beobachtungen der Arbeitsgruppe von Seyve et al., die diese Beobachtungen bereits bei Messungen mit dem ROTEM gemacht hatten [71]. Daher haben wir in einem zweiten Schritt die modifizierten Tests RVV-test und ECA-test analysiert (Abb. 4 C + D).

Im RVV-test kam es zu einer Verlängerung der CT durch alle Substanzklassen (Abb. 4C), es bestanden jedoch signifikante Unterschiede in der Ausprägung zwischen Marcumar und FXa-Inhibitoren (Abb. 4C), wenngleich die CT-Werte überlappen, was eine Differenzierung erschwert. Hervorzuheben ist, dass Apixaban im RVV-test mit einer besseren Sensitivität und Spezifität im Vergleich zum Ex-test detektiert werden kann (EX-test: Sensitivität 80%/Spezifität 80; vs. RVV-test: Sensitivität 90% und Spezifität 100%; im Vergleich zu Kontrollproben ohne DOAK). Letztlich bleibt aber auch beim RVV-test festzuhalten, dass dessen alleinige Verwendung zwar bessere Detektionsraten aufweist als die Standardtests, aber eine Differenzierung zwischen Antikoagulanzen nicht ermöglicht.

Heparine führten, wie bekannt und erwartet, im IN-Test, der die intrinsische Gerinnungskaskade abbildet, zu einer deutlichen Verlängerung der CT. Dies war jedoch nicht spezifisch für Heparine, denn auch die anderen Substanzklassen, wie Dabigatran und FXa-Inhibitoren verlängerten die CT (Abb. 4B). Auch dieser Befund ist vergleichbar mit den Ergebnissen anderer Untersuchungen zu viskoelastometrischen Standardtests und DOAKs und zeigt die nicht spezifische Verlänger der CT_{INTEM} durch verschiedene Substanzklassen. [21,71].

Im ECA-Test zeigte sich eine signifikante Prolongation der CT nur durch Dabigatran (73s (70-78) vs. 307s (246-543); $p < 0.001$; Abb. 4D). Dabei korrelierten die CT-Werte sehr gut mit den „klassisch“ im Labor gemessenen Anti-IIa Aktivitäten ($r = 0.997$; $p < 0.001$). Bei einer Sensitivität und Spezifität von jeweils 100% konnten wir als Cut-Off Wert eine CT von 128s für eine Dabigatranwirkung definieren. Bei CT-Werten oberhalb von 128s kann somit von einer Dabigatranwirkung ausgegangen werden. Über den Ecarin-basierten Test lässt sich somit eine Dabigatranwirkung durch eine normwertige CT ausschließen [26].

Die bisher demonstrierten Ergebnisse zeigen also zusammenfassend, dass die neuen, modifizierten viskoelastometrischen Tests die direkten oralen Antikoagulanzen besser detektieren können als die Standardtests. Teilweise ist es hiermit bereits möglich, Substanzklassen zu differenzieren. Dies gelingt

aber nur sicher für den DTI Dabigatran unter Verwendung der Ecarin-basierten Tests. Eine Differenzierung der FXa-Inhibitoren von den anderen Substanzklassen (vornehmlich Marcumar, da Heparine selten in der Langzeittherapie angewendet werden), aber auch von (anderen) Koagulopathien wie der Dilutionskoagulopathie, gelingt mit einzelnen Tests nicht.

3.2 Ermöglicht die Kombination mehrerer viskoelastometrischer Tests die Differenzierung zwischen direkten oralen Antikoagulanzen und Koagulopathien anderer Genese (Marcumar, Dilution), sowie gesunden, nichtantikoagulierten Kontrollen?

Aufgrund der Vielzahl an verfügbaren viskoelastometrischen Tests und daraus resultierenden mannigfaltigen Mustern entstand das Projekt einen Entscheidungsalgorithmus zu entwickeln. Dieser könnte – so die Idee - aus der Komplexität der verschiedenen Tests und diversen Variablen Muster ableiten und so die Interpretation thrombelastometrischer Kurven im klinischen Alltag erleichtern.

Für dieses Projekt wurden Blutproben von Patienten, die stabil auf ein Antikoagulanzen eingestellt waren, zu einem von der letzten Einnahme unabhängigen Zeitpunkt evaluiert. Dies simuliert die klinische Realität, bei der wir Patienten zu jedem Zeitpunkt zwischen Plasmaspitzenkonzentration und Talspiegel antreffen. Folgende Substanzen wurden in der Studie evaluiert: Dabigatran, Rivaroxaban, Apixaban, Edoxaban und Marcumar. Zusätzlich wurden Proben von 20 Probanden ohne Einnahme eines gerinnungsbeeinflussenden Medikaments untersucht. Zudem wurde an diesen Kontrollproben eine Dilutionskoagulopathie simuliert. Wenngleich sich eine in-vitro Dilution von einer traumainduzierten Koagulopathie unterscheidet, ist eine in-vitro Dilution ein standardisiertes und etabliertes Versuchssetup [66,67]. Bei jeder Probe wurden Blutbild, plasmatische Gerinnung und die thrombelastometrischen Tests (EXTEM, INTEM, FIBTEM, HEPTM, ECATEM, TFTEM; ROTEM, TEM Innovations GmbH, München, Deutschland) analysiert [64].

Die aus unseren vorangegangenen Studien bekannten und bereits dargelegten Auswirkungen der Antikoagulanzen auf die einzelnen Tests konnten zunächst bestätigt werden, so auch die sensitivere Detektion des TFTEM für FXa-Inhibitoren und die Spezifität des ECATEM für Dabigatran. Der durch Dilution bekanntermaßen entstehende Fibrinogenmangel wird durch den FIBTEM-Test gut detektiert, wie in zahlreichen Publikationen bereits belegt [21,26,28,47,56,65,70,71,79]. In der Folge wurden die einzelnen Tests und deren wichtigste Variablen (CT, MCF, A5, etc.) systematisch evaluiert, um einzelne Muster zu erkennen. Zudem nutzten wir die bereits in den Vorarbeiten publizierte Ratio aus CT TFTEM/ECATEM und verschiedenste, aus mechanistischen Überlegungen heraus sinnvoll erscheinende Kombinationen von Testen. Dies beinhaltete verschiedene Kombinationen aus Parametern der Gerinnselfestigkeit, die durch eine verzögerte Gerinnselfestigkeit beeinflusst werden können und der CT, die in jedem Fall in unterschiedlichem Ausmaß beeinflusst wird. Das Potential zur Differenzierung wurde über ROC-Analysen getestet.

Die aktuell auf dem Markt verfügbaren Geräte besitzen eine unterschiedliche Anzahl von Messkanälen. Perspektivisch sollte ein Algorithmus entwickelt werden, der auf allen verfügbaren Geräten nutzbar ist. Somit musste zunächst evaluiert werden, wie viele Tests erforderlich sind, um eine hohe Detektionsrate zu ermöglichen. Ziel war es, dies über lediglich vier Testkanäle abbilden zu können.

In einem ersten Schritt nutzen wir ausschließlich Variablen aus den Standardtests und erstellten mittels CART Algorithmus (Classification und Regression Tree; SPSS Version 25, IBM, Armonk, USA) einen Entscheidungsbaum. Dieser wurde bewusst durch Limitierung der Verzweigung (Pruning = 1.0) in seiner Komplexität reduziert. Hier zeigte sich eine korrekte Detektionsrate bei 78% der analysierten Proben. Dabei konnte Marcumar in keinem und die Kontrollgruppe nur in 80% der Fälle korrekt identifiziert werden [64]. Es zeigte sich somit, dass dieser Algorithmus insuffizient zur Detektion und Differenzierung von Antikoagulanzen ist.

In einem zweiten Schritt nutzten wir zusätzlich die beiden neuen Tests ECATEM und TFTEM. Hier zeigte sich nun eine korrekte Detektionsrate von 94% [64]. Dabei konnten jetzt 90% der Marcumarpatienten und 100% der Kontrollen korrekt klassifiziert werden. Dabigatranproben wurden zu 90% und Proben mit FXa-Inhibitor zu 93,3% korrekt identifiziert. Hervorzuheben ist, dass hierfür lediglich drei verschiedene thrombelastometrische Tests, nämlich FIBTEM, TFTEM und ECATEM benötigt wurden.

In einem dritten Schritt nutzten wir vier Tests, zusätzlich zu den vorher Genannten entweder HEPTEM oder EXTEM, und schränkten die Anzahl der Verzweigungen des Algorithmus nicht mehr ein. Dies war zuvor geschehen, um den Algorithmus übersichtlich zu halten. In dieser dritten Variante zeigte sich ein deutlich komplexerer Algorithmus mit einer höheren Anzahl an Verzweigungen und unter Verwendung von vier thrombelastometrischen Tests. Diese Variante erstellten wir sowohl mit EXTEM als auch mit HEPTEM als jeweils viertem Test, was vergleichbare Ergebnisse bei der Gesamtdetektionsrate erbrachte. Relevant ist, dass die Verwendung des HEPTEM zu einer besseren Unterscheidung zwischen Proben mit FXa-Inhibitor und Marcumar führt, sodass letztlich HEPTEM als vierter Test in den Algorithmus integriert wurde. Hierdurch konnten wir eine Gesamttrefferquote von 98% erreichen. Dabei wurden 100% der Kontrollen, 97% der Dilutionen, 100% der Dabigatranproben, 100% der FXa-Inhibitoren und 90% der Marcumarproben richtig klassifiziert.

Mit diesem von mir entwickelten Verfahren ist es nun erstmalig möglich, Antikoagulanzen automatisiert mittels eines maschinellen Thrombelastometriealgorithmus zu detektieren und zu differenzieren. Dies erscheint wissenschaftlich und kommerziell interessant. Daher haben wir in Kooperation mit einem Medizinproduktehersteller (Werfen, Bedford, USA) ein US-amerikanisches Patent (U.S.-Patentnummer 63/080,944 und 63/091,018;) entwickelt und eingereicht.

In der Folge wird dieser Algorithmus (Abb. 5) nun an einem größeren Kollektiv verifiziert und ggf. angepasst werden. Letztlich ist es das Ziel für die kommenden Jahre, diesen als Medizinprodukt

zuzulassen und in den viskoelastometrischen Geräten zu integrieren. Inwiefern der Algorithmus die Qualität der Behandlung positiv beeinflussen wird können, müssen klinische Studien in Zukunft zeigen.

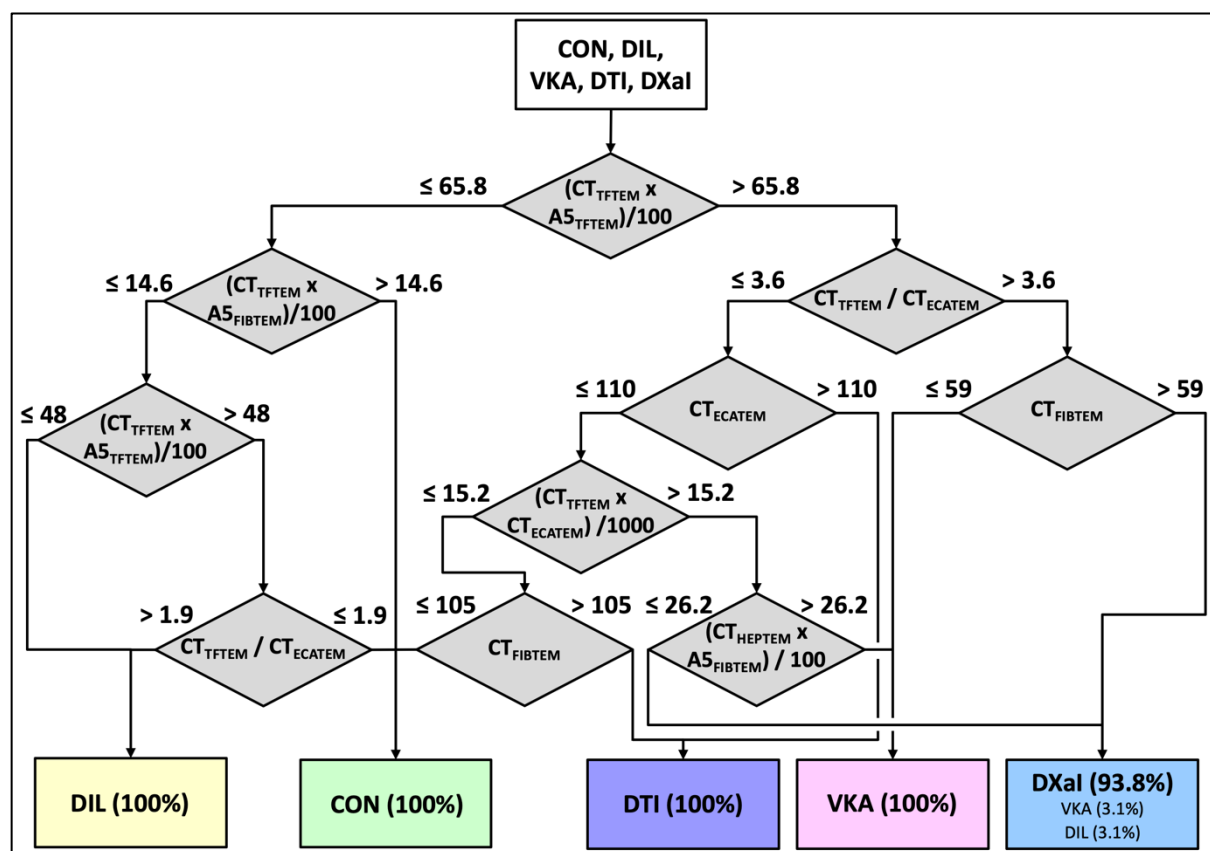


Abb. 5: Viskoelastometrischer Entscheidungsalgorithmus zur Detektion und Differenzierung von Koagulopathien (U.S.-Patentnummer 63/080,944 und 63/091,018). 98% korrekt identifizierte Blutproben (n=80).

CON=Kontrolle, DIL=Dilutionskoagulopathie, VKA=Vitamin-K-Antagonist (Marcumar), DTI=direkter Thrombininhibitor (Dabigatran), DXaI=direkte FXa-Inhibitoren (Rivaroxaban, Apixaban, Edoxaban), CT=clotting time.

Entnommen und übersetzt aus [64] mit der Genehmigung von Elsevier.

Erstmalig ist es möglich unter Verwendung von vier thrombelastometrischen Tests automatisiert DOAKs, Marcumar und eine Dilutionskoagulopathie zu detektieren und gegeneinander zu differenzieren. Insbesondere die schnelle und sichere Differenzierung der direkten oralen Antikoagulanzen untereinander kann für die Zukunft einen wichtigen Baustein in der Therapie akut lebensbedrohter Patienten und Grundlage einer rationalen Gabe von Antidots darstellen.

3.3 Kann Hypo- oder Hyperfibrinolyse durch spezifische viskoelastometrische Gerinnungsanalysen detektiert und die Effektivität einer gerinnungsstabilisierenden Therapie mittels antifibrinolytischer Substanzen (z.B. Tranexamsäure) überwacht werden?

Sowohl Hypo- als auch Hyperfibrinolyse stellen bedrohliche Situationen für Patienten dar [7,36,49,51,53]. Eine Detektion der Hyperfibrinolyse ist mit viskoelastometrischen Testverfahren gut möglich [33]. In den entsprechenden Tests kann ein frühzeitige Auflösung des gebildeten Gerinnsels beobachtet werden [42,48]. Durch spezifische Tests wie den APTEM (TEM Innovation GmbH, München, Deutschland) kann in-vitro im Voraus überprüft werden, ob eine in vivo-Therapie mit TXA suffizient eine Hyperfibrinolyse hemmen kann, da das APTEM TXA (früher Aprotinin) beinhaltet und dadurch eine in vivo-TXA-Gabe simuliert. Unterbleibt im APTEM verglichen mit dem EXTEM die frühzeitige Auflösung des Gerinnsels, kann von einer Hyperfibrinolyse und somit einem Nutzen der TXA-Applikation für den Patienten ausgegangen werden [1,42].

Die Überwachung einer TXA-Therapie hinsichtlich ihrer Effektivität, aber auch einer möglichen Überdosierung gelingt mit dem APTEM Testverfahren hingegen nicht. Ebenso ist es mit den viskoelastometrischen Standardtests nur eingeschränkt möglich und zeitaufwendig eine Hypofibrinolyse zu detektieren [30,53]. Diese klinisch relevante Problematik war treibende Kraft für die Entwicklung eines entsprechenden viskoelastometrischen Tests, dessen Prinzip auf der tissue plasminogen activator (TPA)-induzierten Fibrinolyse beruht. Vergleichbare experimentelle Ansätze hatte es bereits zuvor in Studien gegeben [11,39,40]. Mit dem TPA-test für das ClotPro System (enicor GmbH, München, Deutschland) steht nun ein standardisiertes Verfahren zur Verfügung. Zunächst bildet sich durch Aktivierung des extrinsischen Gerinnungsweges mittels tissue factor ein Gerinnsel, durch Zugabe von TPA (650 ng/ml) wird dann eine vorzeitige Fibrinolyse induziert.

Wir evaluierten diesen Test auf seine Fähigkeit, die Fibrinolysekapazität der Patienten erkennbar zu machen.

Hier bestimmten wir in-vitro die Dosis-Wirkungs-Beziehungen von TXA und Lysevariablen des TPA-Tests [37]. Die Blutproben von sechs gesunden Probanden wurden mit verschiedenen Dosierungen von Tranexamsäure versetzt (0; 1; 2; 3; 5 und 10 µg/ml). Die gewählten Dosierungen orientierten sich hierbei an den publizierten, wirksamen Tranexamsäureplasmakonzentrationen (10-20 µg/ml) [57].

Unsere Ergebnisse zeigten eine dosisabhängige Inhibition der Fibrinolyse im TPA-test anhand der Lysezeit (LT) sowie der Lysis-Onset-Time (LOT) durch TXA (siehe Abb. 6A und 6B). Die Daten zeigten zudem, dass bereits unterhalb der bisher publizierten Plasmakonzentrationen eine suffiziente Inhibition der Fibrinolyse stattfindet. Wir konnten eine gute Korrelation zwischen Tranexamsäurekonzentration und Lysevariablen zeigen (LT: $r=0.894$; $p<0.0001$ / LOT: $r=0.705$; $p<0.0001$). Die maximale Lysefähigkeit (ML; Abb. 6C) veränderte sich erst bei höheren Plasmakonzentrationen. Dennoch bestand auch hier ein guter Zusammenhang mit der Tranexamsäureplasmakonzentration ($r=-0.879$; $p<0.0001$).

Das bedeutet zusammenfassend, dass der TPA-Test eine Aussage über die dosisabhängige Hemmung der TPA-induzierten Lysefähigkeit des Blutes ermöglicht.

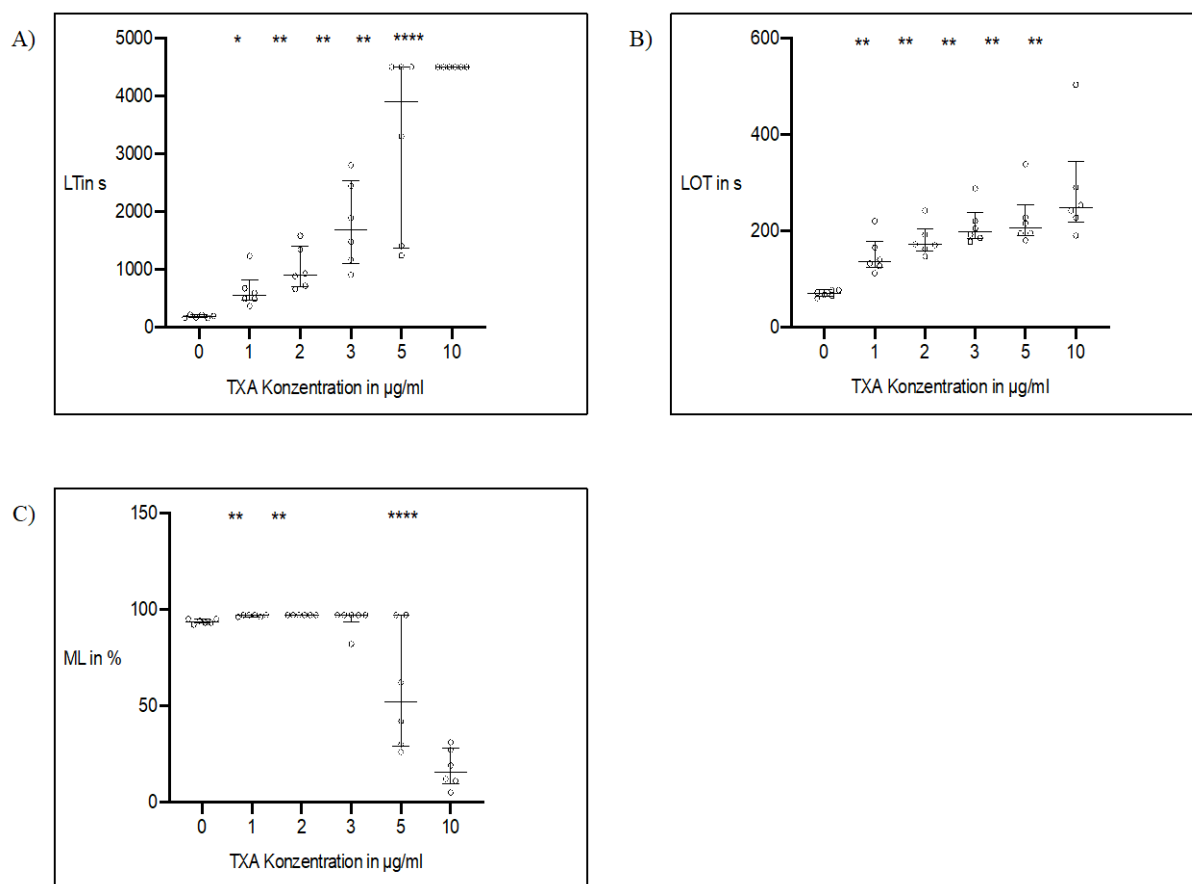


Abb. 6: In-vitro, Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen Lysevariablen und Tranexamsäureplasmakonzentration (Median + IQR; n = 6).

A) Lysis time (LTPA-test); B) Lysis onset time (LOTPA-test); C) Maximum lysis (MLTPA-test)

* $p < 0.05$ vs. Baseline (vor TXA); ** $p < 0.01$ vs. Baseline; *** $p < 0.001$ vs. Baseline; **** $p < 0.0001$ vs. Baseline. Entnommen und übersetzt aus [37] mit der Genehmigung von Karger.

Im nächsten Schritt stellten wir uns die Frage, wie lange TXA in-vivo eine Lysehemmung induziert. Hierfür wählten wir zunächst ein kardiochirurgisches Patientenkollektiv aus [37]. Hier wird TXA standardmäßig zur Prophylaxe während des Einsatzes der Herz-Lungen-Maschine (HLM) eingesetzt. Ziel war es, den Einfluss von Tranexamsäure auf die induzierbare Lyse über einen längeren perioperativen Zeitraum mittels TPA-Tests zu evaluieren. Hierzu wurden 25 kardiochirurgische Patienten, die sich einem Eingriff unter Zuhilfenahme einer Herz-Lungen-Maschine (HLM) unterziehen mussten, in die Studie eingeschlossen. Blutproben wurden vor Beginn der Operation im Rahmen der Anästhesieeinleitung vor Applikation der Tranexamsäure sowie 0,5h, 6h, 24h, 48h, 72h und 96h nach Tranexamsäureapplikation gewonnen. Zu jedem dieser Zeitpunkte wurden die plasmatischen Gerinnungsvariablen, die Tranexamsäureplasmakonzentration und die viskoelastometrischen Gerinnungstests untersucht.

In diesem Projekt konnte gezeigt werden, dass nach Applikation der Tranexamsäure eine vollständige Lysehemmung bei allen Patienten vorlag. Dies lässt sich gut anhand der Lysis Time (LT) und der

maximalen Lyse (ML) (Abb. 7A und 7B) ablesen. Während der gesamten Testlaufzeit von 4500s war keine Lyse induzierbar. Erst 24h nach TXA-Applikation zeigte sich bei einigen Patienten eine wiedereinsetzende Lyse. Hier scheint die Nierenfunktion eine bedeutende Rolle zu spielen, da die Patienten mit wiedereinsetzender Lyse präoperativ eine bessere Nierenfunktion aufwiesen als die Patienten mit weiterhin inhibierter Fibrinolyse (Cystatin C 1,28 mg/L vs. 1,64 mg/L; $p=0.002$). Wichtigstes Ergebnis meiner Studie ist, dass bei einigen Patienten die Fibrinolysehemmung 96h anhielt (Abb. 6A und 6B) und TXA in den Plasmaproben weiterhin nachweisbar war. Erstmals konnte damit gezeigt werden, dass eine perioperative hochdosierte Tranexamsäuregabe, die induzierbare Lyse über mehrere Tage komplett inhibieren kann. Hierbei war die Plasmakonzentration, mit der aus den in-vitro Versuchen bestimmten minimalen effektiven Dosis vergleichbar (Abb. 7C) zudem zeigte sich eine gute Korrelation zwischen Lysis Time und Tranexamsäureplasmakonzentration ($r=0.55$; $p<0.0001$).

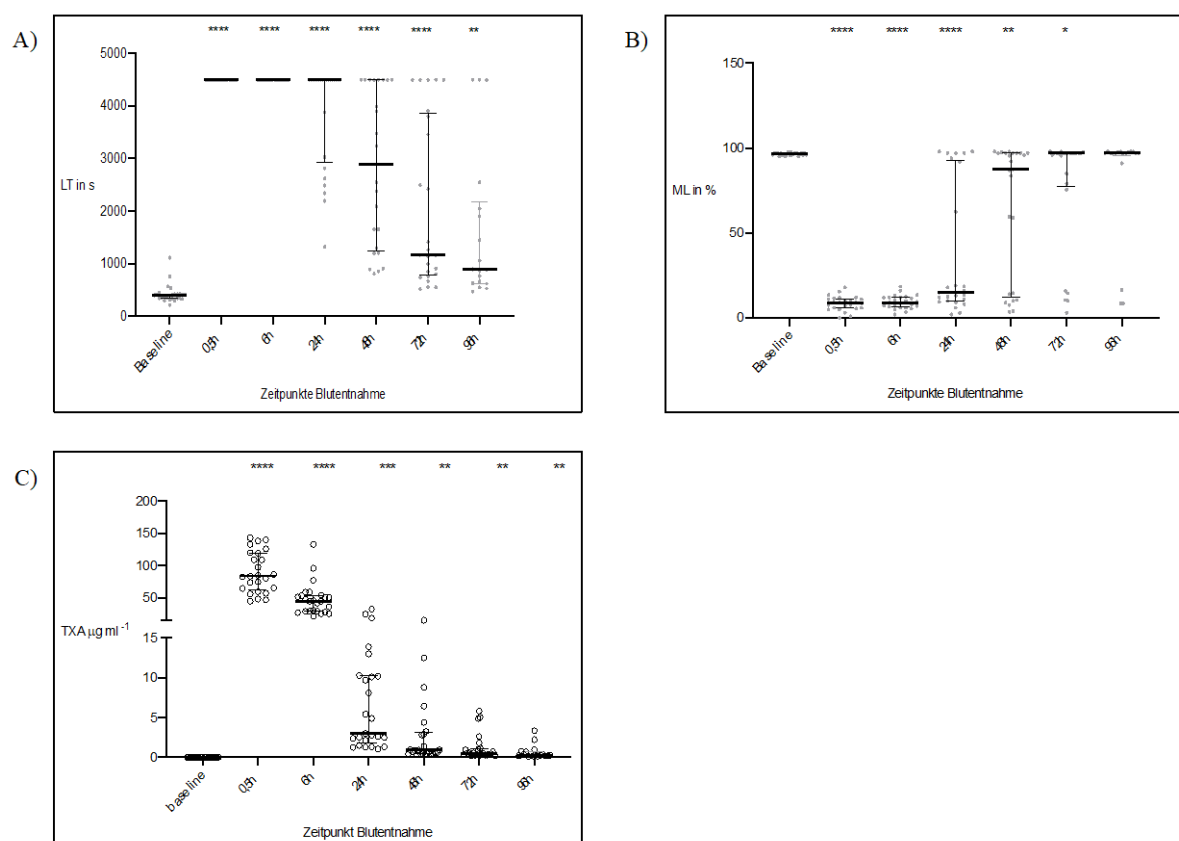


Abb. 7: Einfluss der Tranexamsäure auf die Lysezeit und die maximale Lyse im Zeitverlauf nach Applikation ex-vivo sowie Tranexamsäureplasmakonzentration im Verlauf. Zeitpunkte in Stunden nach Tranexamsäureapplikation. (Median + IQR; $n = 25$).

A) Lysis time (LTTPA-test); B) Maximum lysis (MLTPA-test) C) Tranexamsäureplasmakonzentration.

* $p < 0.05$ vs. Baseline (vor TXA); ** $p < 0.01$ vs. Baseline; *** $p < 0.001$ vs. Baseline; **** $p < 0.0001$ vs. Baseline. Entnommen und übersetzt aus [37] mit der Genehmigung von Karger.

In diesem Projekt konnte also gezeigt werden, dass es mittels TPA-basiertem Test möglich ist, die Fibrinolysekapazität und damit auch die Tranexamsäurewirkung während herzchirurgischer

Operationen zu evaluieren. Zudem konnten gezeigt werden, dass es in Teilen der Patienten zu einer erheblich längeren Wirkung der Tranexamsäure kommt als bisher vermutet. Diese Daten können in Zukunft die Grundlage dafür bieten, Dosierungsschemata neu zu überdenken und ggf. individueller zu gestalten. In unserer eigenen Klinik wurde das Vorgehen bereits dahingehend angepasst und wird regelmäßig überprüft.

Das kardiochirurgische Patientenkollektiv stellt aufgrund seiner Vorerkrankungen, aber auch insbesondere aufgrund der Verwendung der extrakorporalen Zirkulation eine besondere Gruppe dar. Daher haben wir die TXA-bedingte Lysehemmung an einem zweiten unabhängigen Kollektiv und mit geringerer TXA-Dosierung erneut untersucht. Hierfür wählten wir orthopädische Patienten, bei denen standardmäßig 1gr. TXA als Prophylaxe eingesetzt wird [19]. Ziel war es auch hier, die Fibrinolysekapazität zu untersuchen und diese mit der antifibrinolytischen Therapie zu korrelieren [24]. Es wurden Patienten eingeschlossen, die sich einem endoprothetischen Gelenkersatz unterziehen mussten. Patienten, die bis Ende 2018 eingeschlossen wurden, erhielten TXA intravenös. In der Folge kam es zu einer Umstellung der hausinternen SOP (standard operating procedure) auf eine orale Applikationsform (1gr TXA oral). Insgesamt wurden 42 Patienten in die Studie eingeschlossen. Blutproben wurden vor Beginn der Operation im Rahmen der Anästhesieeinleitung vor Applikation der Tranexamsäure sowie 2h, 6h, 12h, 24h und 48h nach Tranexamsäureapplikation gewonnen. Zu jedem dieser Zeitpunkte wurden die plasmatischen Gerinnungsvariablen, Tranexamsäureplasmakonzentration und viskoelastometrische Gerinnungstests gemessen.

Wir konnten zeigen, dass 2h nach TXA Gabe ein signifikanter Unterschied zwischen intravenöser und oraler Applikation (9% vs. 31%; $p=0,0081$; Abb. 7A) bestand und Patienten mit oraler Applikation eine stärkere Lyseinhibition aufwiesen. Dennoch war in beiden Gruppen, also auch der i.v. Gruppe, die maximale Lysefähigkeit (ML) deutlich reduziert (intravenöse Gruppe: 96% vs. 9%; $p<0,001$ / orale Gruppe: 96% vs. 31%; $p<0,001$); Abb. 7A). Nach 48h normalisierte sich die Lysefähigkeit in beiden Gruppen und es bestand kein Unterschied mehr zum Ausgangswert vor Applikation. Die ML korrelierte gut mit der Tranexamsäureplasmakonzentration ($r=0.5483$ / oral: $r=0.5181$; $p<0.0001$). Der Verlauf der TXA-Plasmakonzentration ist somit auch abhängig vom Applikationsweg. Die Lysezeit zeigte eine vollständige Lyseinhibition 2 Stunden nach Applikation in allen Proben nach intravenöser Gabe, während nach oraler Gabe das Ausmaß der Lyseinhibition stark schwankte (Abb. 7B). In der Gruppe nach intravenöser Applikation entwickelte sich ein signifikanter Anstieg der TXA-Plasmakonzentration nach 2 Stunden auf 20,8 $\mu\text{g/ml}$ im Median. nach oraler Applikation nur auf 7,8 $\mu\text{g/ml}$ im Median. Damit lag die Konzentration hier im Median deutlich unter der minimal wirksamen Konzentration, die in den *in vitro* Versuchen erhoben worden war (Abb. 7C).

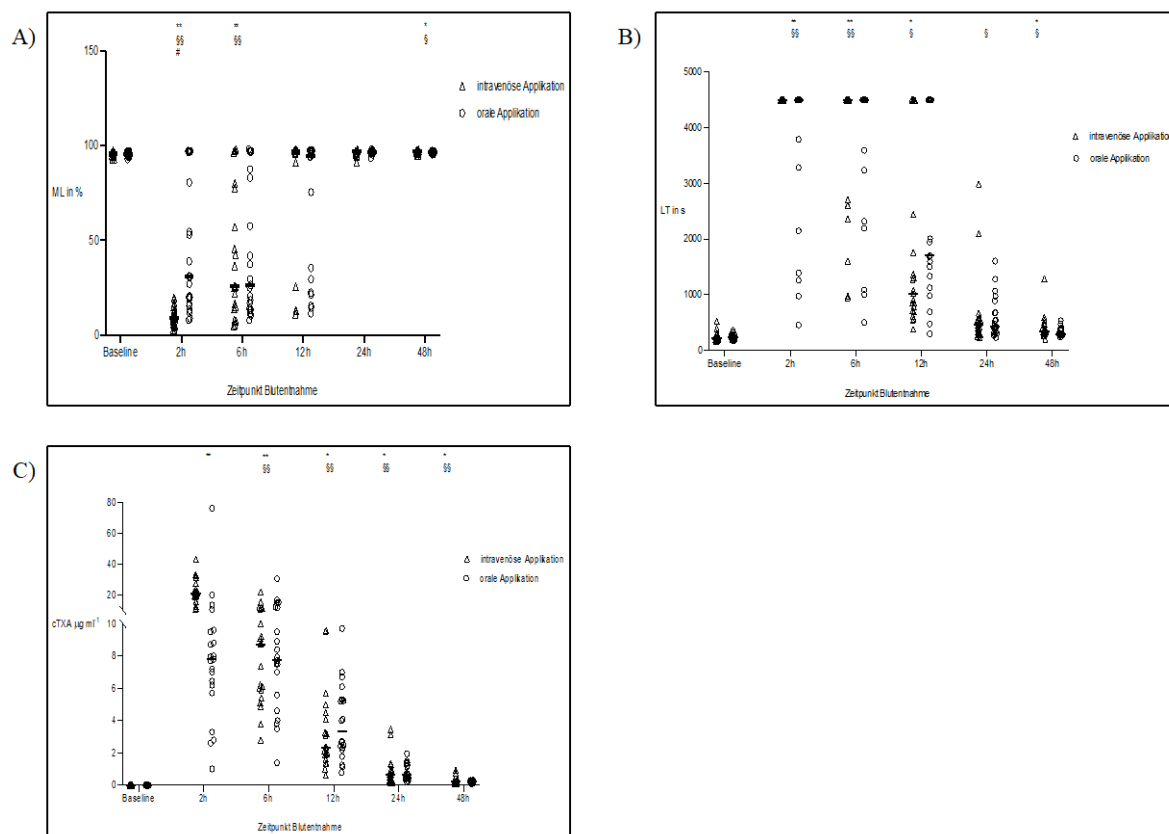


Abb. 7: Einfluss der Tranexamsäure auf die maximale Lyse (ML) und die Lysezeit (LT) im Zeitverlauf nach Applikation ex-vivo sowie Tranexamsäureplasmakonzentration im Verlauf. Zeitpunkte in Stunden nach Tranexamsäureapplikation. (Median + IQR; $n = 25$).

A) Maximum lysis (MLTPA-test); B) Lysis time (LTPA-test); C) Tranexamsäureplasmakonzentration

* $p < 0.05$ vs. Baseline (vor TXA); ** $p < 0.01$ vs. Baseline; *** $p < 0.001$ vs. Baseline; **** $p < 0.0001$ vs. Baseline. Entnommen und übersetzt aus [24] mit der Genehmigung durch Springer Nature.

In der hier dargestellten Studie konnte die Funktionsfähigkeit des TPA-tests in einem zweiten Kollektiv bestätigt werden. Es bestand eine gute Korrelation zwischen Fibrinolysekapazität und Tranexamsäureplasmakonzentration. Als Nebeneffekt konnte diese Studie den variablen Verlauf nach oraler Applikation zeigen. Hieraus ergeben sich ebenfalls erste Hinweise für mögliche Anpassungen im klinischen Alltag hinsichtlich der Applikation. Zudem besteht nun die Möglichkeit, die Effektivität der Therapie zu überprüfen und diese bei Ausbleiben einer suffizienten Fibrinolysehemmung anzupassen.

Die Ergebnisse meiner Studie zeigen also, dass der Zeitpunkt der oralen TXA Einnahme wichtig ist, um intraoperativ die maximale Lyseinhibition zu erreichen und die Vorteile einer intravenösen Gabe darin liegen, dass umgehend eine maximale Lyseinhibition erreicht wird. Weitere Studien sind erforderlich, um zu klären, ob sich die Inzidenz perioperativer Thrombosen zwischen den Applikationswegen unterscheidet.

4. Ausblick

Die patientennahe, schnell verfügbare Gerinnungsanalyse durch viskoelastometrische Verfahren hat sich im Bereich der faktorenbasierten Gerinnungstherapie in den letzten Jahren etabliert und kann das Überleben unserer Patienten verbessern. Mit den in dieser Arbeit vorgestellten Forschungsprojekten konnten wir zeigen, dass das Potenzial der viskoelastometrischen Gerinnungsanalyse noch nicht ausgeschöpft ist. Durch gezielte Neuentwicklungen wird es zukünftig möglich sein, verschiedene Koagulopathien, teils durch Antikoagulanzen verursacht, zu detektieren und zu differenzieren. Dies verhilft zu einer gezielten Therapie durch die nun verfügbaren spezifischen Antagonisten. Inwiefern dies das Outcome der Patienten verbessern kann, werden prospektive klinische Studien zeigen müssen. In den nächsten Schritten gilt es nun, den Algorithmus zu verifizieren und ggf. anzupassen. Die Überprüfung des mittlerweile als U.S.-Patent angemeldeten Algorithmus wird in einer multi-zentrischen Studie an ca. 400 Patienten in den nächsten Jahren erfolgen (DETECT-Study). Bei erfolgreichem Verlauf soll sich die Etablierung im klinischen Alltag und eine entsprechende Zulassung als Medizinprodukt anschließen. Neben der Detektion von DOAKs und Marcumar könnte die in den DOAK-Studien gezeigte sehr hohe Sensitivität des RVV-tests eine Möglichkeit für eine verbesserte Heparin-/Protamintherapie im Bereich der Kardio- und Gefäßchirurgie während extrakorporaler Zirkulation zu darstellen. Erste kleine Versuche zeigten bereits vielversprechende Ergebnisse [25].

Auch die Fähigkeit viskoelastometrischer Verfahren eine Fibrinolyse zu detektieren und deren Therapie zu überwachen, wird in Zukunft helfen, Therapien in den einzelnen Fachgebieten zu optimieren und damit das klinische Outcome zu verbessern. Insbesondere die übermäßig lange Inhibition der Fibrinolyse und deren mögliche negative Folgen in Form von thrombotischen Komplikationen lässt sich künftig messen und ggf. reduzieren. Die aufgezeigten Optionen der neuen Testverfahren werden es zukünftig ermöglichen, ein für den Patienten individuell angepasstes Therapiekonzept zu entwickeln und das bisher gehandhabte „Gießkannen-Prinzip“ zu verlassen.

Die Analyse der fibrinolytischen Kapazität birgt aber noch weitere Möglichkeiten. Insbesondere die Covid-19 Pandemie hat gezeigt, dass Veränderungen der Fibrinolyse nicht nur bei Traumapatienten, sondern auch in anderen Bereichen eine große Rolle spielen können. Die Viskoelastometrie kann auch hier evtl. frühzeitig besonders gefährdete Patienten detektieren.

Zusammenfassend konnte im Rahmen der vorgestellten Studien gezeigt werden, dass verschiedene modifizierte viskoelastometrische Testverfahren eine Stärkung der evidenzbasierten Gerinnungstherapie bedeuten. DOAK können nun innerhalb weniger Minuten detektiert, untereinander differenziert und gegen Marcumar oder eine Dilutionskoagulopathie abgegrenzt werden. Ein automatischer Entscheidungsalgorithmus gibt zudem erstmalig eine Interpretationshilfe. Neben Blutungsursachen kann modifizierte Viskoelastometrie mit dem TPA-Test nun auch eine Hypofibrinolyse detektieren und die Patienten identifizieren, die von einer frühen postoperativen Antikoagulation profitieren könnten.

5. Literaturverzeichnis

- [1] Abuelkasem E, Lu S, Tanaka K, Planinsic R, Sakai T. Comparison between thrombelastography and thromboelastometry in hyperfibrinolysis detection during adult liver transplantation. *Br J Anaesth* 2016;116:507–512.
- [2] Ahmed N, Audebert H, Turc G, Cordonnier C, Christensen H, Sacco S, Sandset EC, Ntaios G, Charidimou A, Toni D, Pristipino C, Köhrmann M, Kuramatsu JB, Thomalla G, Mikulik R, Ford GA, Martí-Fàbregas J, Fischer U, Thoren M, Lundström E, Rinkel GJ, van der Worp HB, Matusevicius M, Tsivgoulis G, Milionis H, Rubiera M, Hart R, Moreira T, Lantz M, Sjöstrand C, Andersen G, Schellinger P, Kostulas K, Sunnerhagen KS, Keselman B, Korompoki E, Purruicker J, Khatri P, Whiteley W, Berge E, Mazya M, Dippel DW, Mustanoja S, Rasmussen M, Söderqvist ÅK, Escudero-Martínez I, Steiner T. Consensus statements and recommendations from the ESO-Karolinska Stroke Update Conference, Stockholm 11-13 November 2018. *Eur Stroke J* 2019;4:307–317.
- [3] Apenteng PN, Gao H, Hobbs FR, Fitzmaurice DA, UK GARFIELD-AF Investigators and GARFIELD-AF Steering Committee. Temporal trends in antithrombotic treatment of real-world UK patients with newly diagnosed atrial fibrillation: findings from the GARFIELD-AF registry. *BMJ Open* 2018;8:e018905.
- [4] Berge E, Whiteley W, Audebert H, De Marchis GM, Fonseca AC, Padiglioni C, de la Ossa NP, Strbian D, Tsivgoulis G, Turc G. European Stroke Organisation (ESO) guidelines on intravenous thrombolysis for acute ischaemic stroke. *Eur Stroke J* 2021;6:I–LXII.
- [5] Chojnowski K, Górski T, Robak M, Treliński J. Effects of Rivaroxaban Therapy on ROTEM Coagulation Parameters in Patients with Venous Thromboembolism. *Adv Clin Exp Med* 2015;24:995–1000.
- [6] Connolly SJ, Milling TJ Jr, Eikelboom JW, Gibson CM, Curnutte JT, Gold A, Bronson MD, Lu G, Conley PB, Verhamme P, Schmidt J, Middeldorp S, Cohen AT, Beyer-Westendorf J, Albaladejo P, Lopez-Sendon J, Goodman S, Leeds J, Wiens BL, Siegal DM, Zotova E, Meeks B, Nakamya J, Lim WT, Crowther M, ANNEXA-4 Investigators. Andexanet Alfa for Acute Major Bleeding Associated with Factor Xa Inhibitors. *N Engl J Med* 2016;375:1131–1141.
- [7] Cotton BA, Harvin JA, Kostousouv V, Minei KM, Radwan ZA, Schöchel H, Wade CE, Holcomb JB, Matijevic N. Hyperfibrinolysis at admission is an uncommon but highly lethal event associated with shock and prehospital fluid administration. *J Trauma Acute Care Surg* 2012;73:365–70; discussion 370.
- [8] Davenport R, Manson J, De’Ath H, Platton S, Coates A, Allard S, Hart D, Pearse R, Pasi KJ, MacCallum P, Stanworth S, Brohi K. Functional definition and characterization of acute traumatic coagulopathy. *Crit Care Med* 2011;39:2652–2658.
- [9] Di Minno MND, Ambrosino P, Lupoli R, Di Minno A, Dentali F. Direct oral anticoagulants for the treatment of unprovoked venous thromboembolism: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Blood Transfus* 2015;13:391–395.
- [10] Dietrich K, Stang L, van Ryn J, Mitchell LG. Assessing the anticoagulant effect of dabigatran in children: an in vitro study. *Thromb Res* 2015;135:630–635.
- [11] Dirkmann D, Görlinger K, Gisbertz C, Dusse F, Peters J. Factor XIII and tranexamic acid but not recombinant factor VIIa attenuate tissue plasminogen activator-induced hyperfibrinolysis in human whole blood. *Anesth Analg* 2012;114:1182–1188.

- [12] Ebner M, Birschmann I, Peter A, Härtig F, Spencer C, Kuhn J, Blumenstock G, Zuern CS, Ziemann U, Poli S. Emergency Coagulation Assessment During Treatment With Direct Oral Anticoagulants: Limitations and Solutions. *Stroke* 2017;48:2457–2463.
- [13] Ebner M, Birschmann I, Peter A, Härtig F, Spencer C, Kuhn J, Rupp A, Blumenstock G, Zuern CS, Ziemann U, Poli S. Limitations of Specific Coagulation Tests for Direct Oral Anticoagulants: A Critical Analysis. *J Am Heart Assoc* 2018;7:e009807.
- [14] Eikelboom JW, Bhatt DL, Fox KAA, Bosch J, Connolly SJ, Anand SS, Avezum A, Berkowitz SD, Branch KRH, Dagenais GR, Félix C, Guzik TJ, Hart RG, Maggioni AP, Muehlhofer E, Sharma M, Shestakovska O, Yusuf S. Mortality Benefit of Rivaroxaban Plus Aspirin in Patients With Chronic Coronary or Peripheral Artery Disease. *J Am Coll Cardiol* 2021;78:14–23.
- [15] Eriksson BI, Borris LC, Friedman RJ, Haas S, Huisman MV, Kakkar AK, Bandel TJ, Beckmann H, Muehlhofer E, Misselwitz F, Geerts W, RECORD1 Study Group. Rivaroxaban versus enoxaparin for thromboprophylaxis after hip arthroplasty. *N Engl J Med* 2008;358:2765–2775.
- [16] Eriksson BI, Dahl OE, Büller HR, Hettiarachchi R, Rosencher N, Bravo M-L, Ahnfelt L, Piovella F, Stangier J, Kälebo P, Reilly P, BISTRO II Study Group. A new oral direct thrombin inhibitor, dabigatran etexilate, compared with enoxaparin for prevention of thromboembolic events following total hip or knee replacement: the BISTRO II randomized trial. *J Thromb Haemost* 2005;3:103–111.
- [17] Eriksson BI, Dahl OE, Rosencher N, Kurth AA, van Dijk CN, Frostick SP, Kälebo P, Christiansen AV, Hantel S, Hettiarachchi R, Schnee J, Büller HR, RE-MODEL Study Group. Oral dabigatran etexilate vs. subcutaneous enoxaparin for the prevention of venous thromboembolism after total knee replacement: the RE-MODEL randomized trial. *J Thromb Haemost* 2007;5:2178–2185.
- [18] Fillingham YA, Ramkumar DB, Jevsevar DS, Yates AJ, Bini SA, Clarke HD, Schemitsch E, Johnson RL, Memtsoudis SG, Sayeed SA, Sah AP, Della Valle CJ. Tranexamic acid in total joint arthroplasty: the endorsed clinical practice guides of the American Association of Hip and Knee Surgeons, American Society of Regional Anesthesia and Pain Medicine, American Academy of Orthopaedic Surgeons, Hip Society, and Knee Society. *Reg Anesth Pain Med* 2019;44:7–11.
- [19] Fillingham YA, Ramkumar DB, Jevsevar DS, Yates AJ, Bini SA, Clarke HD, Schemitsch E, Johnson RL, Memtsoudis SG, Sayeed SA, Sah AP, Della Valle CJ. Tranexamic Acid Use in Total Joint Arthroplasty: The Clinical Practice Guidelines Endorsed by the American Association of Hip and Knee Surgeons, American Society of Regional Anesthesia and Pain Medicine, American Academy of Orthopaedic Surgeons, Hip Society, and Knee Society. *J Arthroplasty* 2018;33:3065–3069.
- [20] Fillingham YA, Ramkumar DB, Jevsevar DS, Yates AJ, Shores P, Mullen K, Bini SA, Clarke HD, Schemitsch E, Johnson RL, Memtsoudis SG, Sayeed SA, Sah AP, Della Valle CJ. The Safety of Tranexamic Acid in Total Joint Arthroplasty: A Direct Meta-Analysis. *J Arthroplasty* 2018;33:3070-3082.e1.
- [21] Fontana P, Alberio L, Angelillo-Scherrer A, Asmis LM, Korte W, Mendez A, Schmid P, Stricker H, Studt J-D, Tsakiris DA, Wuillemin WA, Nagler M. Impact of rivaroxaban on point-of-care assays. *Thromb Res* 2017;153:65–70.
- [22] Gosselin RC, Adcock DM, Bates SM, Douxfils J, Favaloro EJ, Gouin-Thibault I, Guillermo C, Kawai Y, Lindhoff-Last E, Kitchen S. International Council for Standardization in Haematology (ICSH) Recommendations for Laboratory Measurement of Direct Oral Anticoagulants. *Thromb Haemost* 2018;118:437–450.
- [23] Gosselin RC, Adcock DM, Douxfils J. An update on laboratory assessment for direct oral anticoagulants (DOACs). *Int J Lab Hematol* 2019;41 Suppl 1:33–39.

- [24] Groene P, Sappel SR, Saller T, Nitschke T, Sa PA, Paulus A, Chappell D, Schäfer ST. Functional testing of tranexamic acid effects in patients undergoing elective orthopaedic surgery. *J Thromb Thrombolysis* 2020. doi:10.1007/s11239-020-02272-8.
- [25] Groene P, da Silva Gaspar Jung S, Acevedo A-C, Lenhart B, Schäfer ST. A new strategy for an improved detection of residual heparin and excess protamine - A first in-vitro approach. *Thromb Res* 2021;199:75–78.
- [26] Groene P, Wagner D, Kammerer T, Kellert L, Giebl A, Massberg S, Schäfer ST. Viscoelastometry for detecting oral anticoagulants. *Thromb J* 2021;19:18.
- [27] Haas T, Spielmann N, Mauch J, Speer O, Schmutz M, Weiss M. Reproducibility of thrombelastometry (ROTEM®): point-of-care versus hospital laboratory performance. *Scand J Clin Lab Invest* 2012;72:313–317.
- [28] Hagemo JS, Christiaans SC, Stanworth SJ, Brohi K, Johansson PI, Goslings JC, Naess PA, Gaarder C. Detection of acute traumatic coagulopathy and massive transfusion requirements by means of rotational thromboelastometry: an international prospective validation study. *Crit Care* 2015;19:97.
- [29] Hartert H. [Thrombelastography, a method for physical analysis of blood coagulation]. *Z Gesamte Exp Med* 1951;117:189–203.
- [30] Hartmann M, Craciun B, Paul A, Brenner T, Saner FH. Pre-Liver Transplant ROTEM™ Clot Lysis Index Is Associated with 30-Day Mortality, But Is Not a Measure for Fibrinolysis. *J Clin Med Res* 2020;9. doi:10.3390/jcm9103298.
- [31] Henry DA, Carless PA, Moxey AJ, O'Connell D, Stokes BJ, Fergusson DA, Ker K. Anti-fibrinolytic use for minimising perioperative allogeneic blood transfusion. *Cochrane Database Syst Rev* 2011:CD001886.
- [32] Henskens YMC, Gulpen AJW, van Oerle R, Wetzels R, Verhezen P, Spronk H, Schalla S, Crijns HJ, Ten Cate H, Ten Cate-Hoek A. Detecting clinically relevant rivaroxaban or dabigatran levels by routine coagulation tests or thromboelastography in a cohort of patients with atrial fibrillation. *Thromb J* 2018;16:3.
- [33] Hilbert-Carius P, Wurmb T, Lier H, Fischer M, Helm M, Lott C, Böttiger BW, Bernhard M. [Care for severely injured persons : Update of the 2016 S3 guideline for the treatment of polytrauma and the severely injured]. *Anaesthesist* 2017;66:195–206.
- [34] Huang Y-L, Chen C-Y, Chu C-C. Risk of major bleeding and thromboembolism in Asian patients with nonvalvular atrial fibrillation using direct oral anticoagulants versus warfarin. *Int J Clin Pharm* 2021. doi:10.1007/s11096-021-01309-z.
- [35] Ingason AB, Hreinsson JP, Ágústsson AS, Lund SH, Rumba E, Pálsson DA, Reynisson IE, Guðmundsdóttir BR, Öundurson PT, Björnsson ES. Rivaroxaban Is Associated With Higher Rates of Gastrointestinal Bleeding Than Other Direct Oral Anticoagulants : A Nationwide Propensity Score-Weighted Study. *Ann Intern Med* 2021. doi:10.7326/M21-1474.
- [36] Ives C, Inaba K, Branco BC, Okoye O, Schochl H, Talving P, Lam L, Shulman I, Nelson J, Demetriades D. Hyperfibrinolysis elicited via thromboelastography predicts mortality in trauma. *J Am Coll Surg* 2012;215:496–502.
- [37] Kammerer T, Groene P, Sappel SR, Peterss S, Sa PA, Saller T, Giebl A, Scheiermann P, Hagl C, Schäfer ST. Functional Testing for Tranexamic Acid Duration of Action Using Modified Viscoelastometry. *Transfus Med Hemother* 2020. doi:10.1159/000511230.

- [38] Kashuk JL, Moore EE, Sawyer M, Wohlauser M, Pezold M, Barnett C, Biffi WL, Burlew CC, Johnson JL, Sauaia A. Primary fibrinolysis is integral in the pathogenesis of the acute coagulopathy of trauma. *Ann Surg* 2010;252:434–42; discussion 443–4.
- [39] Kuiper GJAJM, Kleinegris M-CF, van Oerle R, Spronk HMH, Lancé MD, Ten Cate H, Henskens YMC. Validation of a modified thromboelastometry approach to detect changes in fibrinolytic activity. *Thromb J* 2016;14:1.
- [40] Kupesiz A, Rajpurkar M, Warriar I, Hollon W, Tosun O, Lusher J, Chitlur M. Tissue plasminogen activator induced fibrinolysis: standardization of method using thromboelastography. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2010;21:320–324.
- [41] Lassen MR, Ageno W, Borris LC, Lieberman JR, Rosencher N, Bandel TJ, Misselwitz F, Turpie AGG, RECORD3 Investigators. Rivaroxaban versus enoxaparin for thromboprophylaxis after total knee arthroplasty. *N Engl J Med* 2008;358:2776–2786.
- [42] Levrat A, Gros A, Rugeri L, Inaba K, Floccard B, Negrier C, David J-S. Evaluation of rotation thrombelastography for the diagnosis of hyperfibrinolysis in trauma patients. *Br J Anaesth* 2008;100:792–797.
- [43] Levy JH, Koster A, Quinones QJ, Milling TJ, Key NS. Antifibrinolytic Therapy and Perioperative Considerations. *Anesthesiology* 2018;128:657–670.
- [44] Mani H, Rohde G, Stratmann G, Hesse C, Herth N, Schwes S, Perzborn E, Lindhoff-Last E. Accurate determination of rivaroxaban levels requires different calibrator sets but not addition of antithrombin. *Thromb Haemost* 2012;108:191–198.
- [45] Manji RA, Grocott HP, Leake J, Ariano RE, Manji JS, Menkis AH, Jacobsohn E. Seizures following cardiac surgery: the impact of tranexamic acid and other risk factors. *Can J Anaesth* 2012;59:6–13.
- [46] Margetić S, Čelap I, Delić Brkljačić D, Pavlović N, Šupraha Goreta S, Kobasić I, Lovrenčić-Huzjan A, Bašić Kes V. Chromogenic anti-FXa assay calibrated with low molecular weight heparin in patients treated with rivaroxaban and apixaban: possibilities and limitations. *Biochem Med* 2020;30:010702.
- [47] McNamara H, Kenyon C, Smith R, Mallaiah S, Barclay P. Four years' experience of a ROTEM®-guided algorithm for treatment of coagulopathy in obstetric haemorrhage. *Anaesthesia* 2019;74:984–991.
- [48] McNeil JS, Kleiman AM. Fulminant Hyperfibrinolysis Diagnosed by Rotational Thromboelastometry. *Anesthesiology* 2017;127:892.
- [49] Meizoso JP, Dudaryk R, Mulder MB, Ray JJ, Karcutskie CA, Eidelson SA, Namias N, Schulman CI, Proctor KG. Increased risk of fibrinolysis shutdown among severely injured trauma patients receiving tranexamic acid. *J Trauma Acute Care Surg* 2018;84:426–432.
- [50] Moore GW. Snake Venoms in Diagnostic Hemostasis and Thrombosis. *Semin Thromb Hemost* 2021. doi:10.1055/s-0041-1732465.
- [51] Moore HB, Moore EE, Liras IN, Gonzalez E, Harvin JA, Holcomb JB, Sauaia A, Cotton BA. Acute fibrinolysis shutdown after injury occurs frequently and increases mortality: A multicenter evaluation of 2,540 severely injured patients. *J Am Coll Surg* 2016;222:347–355.
- [52] Morrison JJ, Dubose JJ, Rasmussen TE, Midwinter MJ. Military Application of Tranexamic Acid in Trauma Emergency Resuscitation (MATTERs) Study. *Arch Surg* 2012;147:113–119.

- [53] Nicolau-Raducu R, Beduschi T, Vianna R, Diez C, Sleem M, Singh BP, Vasileiou G, Raveh Y. Fibrinolysis shutdown is associated with thrombotic and hemorrhagic complications and poorer outcomes after liver transplantation. *Liver Transpl* 2019;25:380–387.
- [54] Nilsson IM. Clinical pharmacology of aminocaproic and tranexamic acids. *J Clin Pathol Suppl* 1980;14:41–47.
- [55] Olde Engberink RHG, Kuiper GJAJM, Wetzels RJH, Nelemans PJ, Lance MD, Beckers EAM, Henskens YMC. Rapid and correct prediction of thrombocytopenia and hypofibrinogenemia with rotational thromboelastometry in cardiac surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2014;28:210–216.
- [56] Pailleret C, Jourdi G, Siguret V, Gouin-Thibault I, Gandrille S, Stepanian A, Curis E, Golmard J-L, Gaussem P, Le Bonniec B, Samama CM. Modified ROTEM for the detection of rivaroxaban and apixaban anticoagulant activity in whole blood: A diagnostic test study. *Eur J Anaesthesiol* 2019;36:449–456.
- [57] Picetti R, Shakur-Still H, Medcalf RL, Standing JF, Roberts I. What concentration of tranexamic acid is needed to inhibit fibrinolysis? A systematic review of pharmacodynamics studies. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2019;30:1–10.
- [58] Poli S, Härtig F, Spencer C, Ebner M, Birschmann I, Kuhn J, Faix S, Ziemann U, Häring H-U, Lehmann R, Peter A, Hörber S. Diagnostic Accuracy of a Novel Chromogenic Direct Thrombin Inhibitor Assay: Clinical Experiences for Dabigatran Monitoring. *Thromb Haemost* 2017;117:2369–2375.
- [59] Pollack CV Jr, Reilly PA, van Ryn J, Eikelboom JW, Glund S, Bernstein RA, Dubiel R, Huisman MV, Hylek EM, Kam C-W, Kamphuisen PW, Kreuzer J, Levy JH, Royle G, Sellke FW, Stangier J, Steiner T, Verhamme P, Wang B, Young L, Weitz JI. Idarucizumab for Dabigatran Reversal - Full Cohort Analysis. *N Engl J Med* 2017;377:431–441.
- [60] Pollack CV Jr, Reilly PA, Weitz JI. Dabigatran Reversal with Idarucizumab. *N Engl J Med* 2017;377:1691–1692.
- [61] Rohde LE, de Assis MCS, Rabelo ER. Dietary vitamin K intake and anticoagulation in elderly patients. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2007;10:1–5.
- [62] Samuelson BT, Cuker A. Measurement and reversal of the direct oral anticoagulants. *Blood Rev* 2017;31:77–84.
- [63] Samuelson BT, Cuker A, Siegal DM, Crowther M, Garcia DA. Laboratory Assessment of the Anticoagulant Activity of Direct Oral Anticoagulants: A Systematic Review. *Chest* 2017;151:127–138.
- [64] Schäfer ST, Otto A-C, Acevedo A-C, Görlinger K, Massberg S, Kammerer T, Groene P. Point-of-care detection and differentiation of anticoagulant therapy - development of thromboelastometry-guided decision-making support algorithms. *Thromb J* 2021;19:63.
- [65] Schäfer ST, Wiederkehr T, Kammerer T, Acevedo A-C, Feil K, Kellert L, Görlinger K, Hinske LC, Groene P. Real-time detection and differentiation of direct oral anticoagulants (rivaroxaban and dabigatran) using modified thromboelastometric reagents. *Thromb Res* 2020;190:103–111.
- [66] Schlimp CJ, Cadamuro J, Solomon C, Redl H, Schöchl H. The effect of fibrinogen concentrate and factor XIII on thromboelastometry in 33% diluted blood with albumin, gelatine, hydroxyethyl starch or saline in vitro. *Blood Transfus* 2013;11:510–517.
- [67] Schmidt DE, Halmin M, Wikman A, Östlund A, Ågren A. Relative effects of plasma, fibrinogen concentrate, and factor XIII on ROTEM coagulation profiles in an in vitro model of massive transfusion in trauma. *Scand J Clin Lab Invest* 2017;77:397–405.

- [68] Schöch H, Frietsch T, Pavelka M, Jámboř C. Hyperfibrinolysis after major trauma: differential diagnosis of lysis patterns and prognostic value of thrombelastometry. *J Trauma* 2009;67:125–131.
- [69] Schumacher C, Eismann H, Sieg L, Friedrich L, Scheinichen D, Vondran FWR, Johanning K. Use of Rotational Thromboelastometry in Liver Transplantation Is Associated With Reduced Transfusion Requirements. *Exp Clin Transplant* 2019;17:222–230.
- [70] Seebold JA, Campbell D, Wake E, Walters K, Ho D, Chan E, Bulmer AC, Wullschleger M, Winearls J. Targeted fibrinogen concentrate use in severe traumatic haemorrhage. *Crit Care Resusc* 2019;21:171–178.
- [71] Seyve L, Richarme C, Polack B, Marlu R. Impact of four direct oral anticoagulants on rotational thromboelastometry (ROTEM). *Int J Lab Hematol* 2018;40:84–93.
- [72] Shore-Lesserson L, Baker RA, Ferraris V, Greilich PE, Fitzgerald D, Roman P, Hammon J. STS/SCA/AmSECT Clinical Practice Guidelines: Anticoagulation during Cardiopulmonary Bypass. *J Extra Corpor Technol* 2018;50:5–18.
- [73] Sigaut S, Tremey B, Ouattara A, Couturier R, Taberlet C, Grassin-Delyle S, Dreyfus J-F, Schlumberger S, Fischler M. Comparison of two doses of tranexamic acid in adults undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology* 2014;120:590–600.
- [74] Stangier J, Rathgen K, Staehle H, Gansser D, Zimmermann R. Relative bioavailability of 200 mg film coated tablets of BIBR 1048 MS with or without food compared to 200 mg solution of BIBR 1048 MS given as single oral administrations to healthy subjects: a 3-way cross-over, open, partly randomised study. Study no. 1160.3. Report no. U00–1231. Boehringer Ingelheim Internal Report 1999.
- [75] Stangier J, Rathgen K, Staehle H, Stassen J, Zimmermann R. Pharmacodynamics, safety and pharmacokinetics after single oral administration of 10, 30, 100, 200 and 400 mg BIBR 1048 MS as drinking solution in healthy subjects: an open study, placebocontrolled, randomized, double blind at each dose level. Study no. 1160.1. Report no. U99–1502. Boehringer Ingelheim Internal Report 2000.
- [76] Taune V, Wallén H, Ågren A, Gryfelt G, Sjövik C, Wintler AM, Malmström RE, Wikman A, Skeppholm M. Whole blood coagulation assays ROTEM and T-TAS to monitor dabigatran treatment. *Thromb Res* 2017;153:76–82.
- [77] Toulon P, Ozier Y, Ankri A, Fléron M-H, Leroux G, Samama CM. Point-of-care versus central laboratory coagulation testing during haemorrhagic surgery. A multicenter study. *Thromb Haemost* 2009;101:394–401.
- [78] Vedovati MC, Becattini C, Germini F, Agnelli G. Efficacy and safety of direct oral anticoagulants after pulmonary embolism: a meta-analysis. *Int J Cardiol* 2014;177:601–603.
- [79] Vedovati MC, Mosconi MG, Isidori F, Agnelli G, Becattini C. Global thromboelastometry in patients receiving direct oral anticoagulants: the RO-DOA study. *J Thromb Thrombolysis* 2020;49:251–258.
- [80] Williams-Johnson JA, McDonald AH, Strachan GG, Williams EW. Effects of tranexamic acid on death, vascular occlusive events, and blood transfusion in trauma patients with significant haemorrhage (CRASH-2) A randomised, placebo-controlled trial. *West Indian Med J* 2010;59:612–624.
- [81] WOMAN Trial Collaborators. Effect of early tranexamic acid administration on mortality, hysterectomy, and other morbidities in women with post-partum haemorrhage (WOMAN): an international, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2017;389:2105–2116.

- [82] Zamper RPC, Amorim TC, Queiroz VNF, Lira JDO, Costa LGV, Takaoka F, Juffermans NP, Neto AS. Association between viscoelastic tests-guided therapy with synthetic factor concentrates and allogenic blood transfusion in liver transplantation: a before-after study. *BMC Anesthesiol* 2018;18:198.
- [83] Zhang Y, Bai Y, Chen M, Zhou Y, Yu X, Zhou H, Chen G. The safety and efficiency of intravenous administration of tranexamic acid in coronary artery bypass grafting (CABG): a meta-analysis of 28 randomized controlled trials. *BMC Anesthesiol* 2019;19:104.

6. Publikationen der kumulativen Habilitationsschrift

Schäfer ST, Otto A-C, Acevedo A-C, Görlinger K, Massberg S, Kammerer T, **Groene P**. Point-of-care detection and differentiation of anticoagulant therapy - development of thromboelastometry-guided decision-making support algorithms. *Thromb J* 2021;19:63. (*Impact Factor* 2020 5,500)

<http://dx.doi.org/10.1186/s12959-021-00313-7>

Groene P, Wagner D, Kammerer T, Kellert L, Giebl A, Massberg S, Schäfer ST. Viscoelastometry for detecting oral anticoagulants. *Thromb J* 2021;19:18. (*Impact Factor* 2020 5,500)

<https://doi.org/10.1186/s12959-021-00267-w>

Groene P, da Silva Gaspar Jung S, Acevedo A-C, Lenhart B, Schäfer ST. A new strategy for an improved detection of residual heparin and excess protamine – A first in-vitro approach. *Thromb Res* 2021. doi:10.1016/j.thromres.2020.12.028. (*Impact Factor* 3,944)

<http://dx.doi.org/10.1016/j.thromres.2020.12.028>

Kammerer T, **Groene P**, Sappel SR, Peterss S, Sa PA, Saller T, Giebl A, Scheiermann P, Hagl C, Schäfer ST. Functional Testing for Tranexamic Acid Duration of Action Using Modified Viscoelastometry. *Transfus Med Hemother* 2020. doi:10.1159/000511230. (*Impact Factor* 3,747)

(geteilte Erstautorschaft)

<http://dx.doi.org/10.1159/000511230>

Groene P, Sappel SR, Saller T, Nitschke T, Sa PA, Paulus A, Chappell D, Schäfer ST. Functional testing of tranexamic acid effects in patients undergoing elective orthopaedic surgery. *J Thromb Thrombolysis* 2020. doi:10.1007/s11239-020-02272-8. (*Impact Factor* 2,300)

<https://doi.org/10.1007/s11239-020-02272-8>

Schäfer ST, Wiederkehr T, Kammerer T, Acevedo A-C, Feil K, Kellert L, Görlinger K, Hinske LC, **Groene P**. Real-time detection and differentiation of direct oral anticoagulants (rivaroxaban and dabigatran) using modified thromboelastometric reagents. *Thromb Res* 2020;190:103–111.

(*Impact Factor* 3,944)

<https://doi.org/10.1016/j.thromres.2020.04.019>