

Aus der Klinik für Anaesthesiologie  
Klinik der Universität München  
Direktor: Prof. Dr. med. Bernhard Zwißler

Detektion direkter oraler Antikoagulanzen mittels  
Point-of-Care Diagnostik (ClotPro®)

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Daniela Maria Wagner  
aus München

2022

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Simon Schäfer

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Michael Vogeser  
PD Dr. med. Lisa Gross

Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter: PD Dr. med. Philipp Groene

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 08.12.2022

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht

Groene P, Wagner D, Kammerer T, Kellert L, Giebl A, Massberg S, Schäfer S  
T (2021) Viscoelastometry for detecting oral anticoagulants.  
Thrombosis Journal 2021; 19:18

Meiner Familie

# Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis .....	1
1 Einleitung.....	3
1.1 Antikoagulanzen .....	3
1.1.1 Vitamin-K-Antagonisten .....	3
1.1.2 Direkte orale Antikoagulanzen .....	4
1.2 Methoden der Gerinnungsdiagnostik .....	7
1.3 Viskoelastometrie .....	10
1.3.1 ClotPro®.....	12
1.3.2 Grafische Darstellung.....	13
1.3.3 Viskoelastometrische Parameter .....	14
1.3.4 Reagenzien.....	15
1.4 Zielsetzung.....	17
2 Material und Methoden .....	18
2.1 Studiendesign .....	18
2.2 Studienablauf .....	18
2.2.1 Probandenkollektiv .....	18
2.2.2 Patientenkollektiv .....	19
2.2.3 Datenerhebung.....	20
2.2.4 Blutentnahme .....	20
2.2.5 Viskoelastometrie via ClotPro® .....	21
2.3 Dosis-Wirkungskurven in vitro.....	22
2.3.1 Ziel-Konzentration der Testsubstanzen.....	22
2.3.2 Durchführung der viskoelastometrischen Messungen .....	24
2.3.3 Klinische Chemie.....	24
2.4 DOAK Detektion ex vivo .....	24
2.4.1 Durchführung der viskoelastometrischen Messungen .....	24
2.4.2 Klinische Chemie.....	24
2.4.3 Asservierung.....	24
2.5 Materialverzeichnis .....	25

2.6	Statistik.....	27
3	Ergebnisse.....	28
3.1	In vitro Studienteil .....	28
3.1.1	Probandengruppe.....	28
3.1.2	Vorversuche.....	30
3.1.3	Plasmatische Gerinnung .....	30
3.1.4	Viskoelastometrische Auswertung.....	31
3.2	Ex vivo Studienteil .....	38
3.2.1	Demographische und klinische Daten .....	38
3.2.2	Probanden- und Patientengruppe.....	39
3.2.3	Plasmatische Gerinnung .....	40
3.2.4	Viskoelastometrische Auswertung.....	41
4	Diskussion .....	52
4.1	Zusammenfassung der Ergebnisse .....	52
4.2	Zusammenfassung des Studiendesigns .....	57
4.3	Diskussion der Methoden.....	58
4.4	Ausblick.....	59
5	Zusammenfassung.....	61
6	Abbildungsverzeichnis .....	63
7	Tabellenverzeichnis .....	64
8	Literaturverzeichnis.....	65
9	Anhang .....	74
10	Danksagung.....	76
11	Eidesstattliche Versicherung.....	77

## **Abkürzungsverzeichnis**

ANOVA	analysis of variance = Varianzanalyse
aPPSB	aktiviertes Prothrombinkomplex-Konzentrat
aPTT	aktivierte partielle Thrombinzeit
ASA	Risikoklassifikation der American Society of Anesthesiologists
AUC	Area under the curve
BMI	Body-Mass-Index
CFT	Clot Formation Time = Gerinnselformungszeit
CHA <sub>2</sub> DS <sub>2</sub> -VASc	Score zur Ermittlung des Thrombembolie-Risikos bei Patienten mit Vorhofflimmern
CT	Clotting Time = Gerinnungszeit
DI-Wasser	deionisiertes Wasser
DMSO	Dimethylsulfoxid
DOAK	direktes orales Antikoagulanz
dTT	verdünnte Thrombinzeit
ECA	Ecarin
ECT	Ecarin Clotting Time
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ESC	European Society of Cardiology
FXa-Inhibitor	Faktor-Xa-Inhibitor
G	Gewichtskraft
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
HCl	Salzsäure
HTI-Test	Hemoclot®-Thrombin Inhibitor Test
ICSH	International Council for Standardization in Haematology
INR	International Normalized Ratio
IQR	Interquartilerange
ISI	International Sensitivity Index
ISTH	Internationale Gesellschaft für Thrombose und Hämostase
LOT	Lysis Onset Time
LT	Lysis Time
MCF	Maximum Clot Firmness = maximale Gerinnselfestigkeit
ML	maximale Lyse

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

---

NMH	niedermolekulares Heparin
NOAK	Nicht-Vitamin-K-abhängiges Antikoagulanz
POCT	Point-of-Care-Test
PPSB	Prothrombinkomplex-Konzentrat
PR	Prothrombin Ratio
PT/PZ	Prothrombinzeit
Q <sub>1</sub> , Q <sub>2</sub>	Interquartilabstand
ROC	Receiver Operating Characeristic
ROTEM®	Rotationsthrombelastometrie
RVV	Russel Viper Venom
SpO <sub>2</sub>	Sauerstoffsättigung in der Pulsoxymetrie
TEG®	Thrombelastografie
TEG®R	Reaction Time, entspricht der CT im ROTEM® und ClotPro®
TPA	Tissue Plasminogen Aktivator = Gewebeplasminogenaktivator
TT/TZ	Thrombinzeit
UFH	unfraktioniertes Heparin
VKA	Vitamin-K-Antagonisten
WHO	World Health Organization

# 1 Einleitung

## 1.1 Antikoagulanzen

### 1.1.1 Vitamin-K-Antagonisten

Die orale Antikoagulation spielt in der Prävention thromboembolischer Ereignisse eine entscheidende Rolle. Diese treten aufgrund der demographischen Entwicklung in der Gesamtbevölkerung vermehrt auf [1]. So nahm im Jahr 2020 die Gesamtverordnung der oralen Antikoagulanzen in Deutschland erneut zu. Mit insgesamt 1.022 Millionen Verordnungen an definierten Tagesdosen ist dies ein Anstieg um das 2,5fache seit 2010 [2]. Ihr Einsatzgebiet reicht von der Akuttherapie über die Prophylaxe bis zur Sekundärprävention thromboembolischer Ereignisse [3,4]. Das Vorhofflimmern stellt in Deutschland die weitverbreitetste Indikation für eine orale Antikoagulation dar [2]. Da das Risiko bei Patienten mit Vorhofflimmern einen ischämischen Schlaganfall zu erleiden 4- bis 5-fach höher liegt, als bei Patienten welche sich im Sinusrhythmus befinden, müssen gerade diese durch eine Antikoagulation vor thromboembolischen Ereignissen geschützt werden [5]. Vitamin-K-Antagonisten (VKA), wie beispielsweise Warfarin und Phenprocoumon, stellten hierfür jahrzehntelang die Standardtherapie dar [6]. Trotz ihrer guten Effektivität in der Reduktion des Schlaganfallrisikos bringen VKA einige Nachteile mit sich [7]. Eine relativ enge therapeutische Breite und die individuelle Variabilität der therapeutisch erforderlichen Dosierung erfordern häufig Dosisanpassungen und ein engmaschiges Monitoring. Da beim Einsatz von VKA die Synthese der Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren II, VII, IX und X gehemmt wird, erfolgt die Überprüfung der Therapiequalität durch regelmäßige Bestimmung der International Normalized Ratio (INR). Da nur die Synthese neuer Faktoren gehemmt wird, vorhandene aber nicht inaktiviert werden, gibt es einen zeitlichen Verzug bis die antikoagulatorische Wirkung eintritt. Eine vollständige Gerinnungshemmung ist erst nach drei bis sechs Tagen erreicht, da die Vitamin-K-abhängigen Faktoren eine Halbwertszeit von ca. 72 Stunden aufweisen [8,9]. Der Beginn einer Therapie mit VKA erfordert daher eine überbrückende, zusätzliche Form der Antikoagulation, welche häufig mit Heparin (niedermolekular oder unfractioniert) erfolgt [8]. Dieses sogenannte *Bridging* ist zudem nötig, da auch die antikoagulatorisch wirksamen Proteine C und S durch VKA gehemmt werden und somit ein erhöhtes Thromboserisiko zu Therapiebeginn besteht [9]. Die Herausforderung einer optimalen Therapieeinstellung wird durch zahlreiche Interaktionen mit anderen Medikamenten und Lebensmitteln

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

---

ergänzt. Zudem können eine eingeschränkte Leber- oder Nierenfunktion Veränderungen im INR-Zielbereich zur Folge haben. Diese vielfältigen Faktoren erschweren das Erstellen einheitlicher Dosierungsschemata und bewirken häufig eine eingeschränkte Therapieadhärenz [10].

Während im angelsächsischen Raum vor allem Warfarin Anwendung findet, wird in Deutschland hauptsächlich Phenprocoumon eingesetzt. Zu beachten ist hierbei die unterschiedliche Halbwertszeit der beiden Substanzen. Diese beträgt bei Warfarin circa 40 Stunden und bei Phenprocoumon circa 6,5 Tage [8]. Aufgrund dieser langen Halbwertszeiten kann bei Blutungen somit nicht gewartet werden, bis der antikoagulatorische Effekt nachgelassen hat. Die Synthese der Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren kann durch Gabe von Vitamin-K beschleunigt werden. Dennoch dauert es ca. ein bis zwei Tage bis eine, zumindest teilweise Normalisierung der INR eingetreten ist. Daher werden in Akutsituationen Prothrombinkomplex-Konzentrate (PPSB) verabreicht, die eine sofortige Normalisierung der INR bewirken [8].

Eine gefürchtete Komplikation der VKA-Therapie, wie bei den meisten antikoagulatorischen Medikamenten, ist eine Blutung [11]. Die Rate an starken Blutungen bei Patienten unter Langzeittherapie mit VKA variiert in den Daten zwischen 1,5% und 5,2% pro Jahr. Mit einer Häufigkeit von circa 8,7% aller Blutungskomplikationen, stellt die intrakranielle Blutung die gefürchtetste Komplikation dar und endet sie mit einer Mortalitätsrate von 46% bis 55% häufig tödlich [12]. Die aufgeführten Limitationen der VKA-Therapie verdeutlichen den Bedarf und die Nachfrage an effektiveren, sichereren und patientenfreundlicheren Antikoagulanzen.

### **1.1.2 Direkte orale Antikoagulanzen**

Vor inzwischen mehr als zehn Jahren wurde die neue Substanzgruppe der direkten, nicht-Vitamin-K-abhängigen, oralen Antikoagulanzen – kurz DOAK genannt – eingeführt. Die DOAK werden alternativ stellenweise auch als Nicht-Vitamin-K-abhängige Antikoagulanzen (NOAK) bezeichnet. Zu ihnen zählen der 2008 in Europa zugelassene direkte Thrombin-Inhibitor Dabigatran und die direkten Faktor-Xa-Inhibitoren Rivaroxaban (2008), Apixaban (2011) und Edoxaban (2015) [2]. Die Wirksamkeit und Sicherheit unter DOAK-Therapie im Vergleich zu VKA bei Patienten mit nicht-valvulärem Vorhofflimmern wurde in randomisierten, kontrollierten Phase-III-Studien untersucht. Die Nicht-Unterlegenheit von DOAK im Vergleich zu Warfarin konnte in allen Studien bewiesen werden, indem Schlaganfälle und systemische

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

---

Embolien unter DOAK-Therapie nicht häufiger als unter Warfarin festzustellen waren [13–16]. Unter Dabigatran mit zweimal 150 mg/Tag oder Apixaban zweimal 5 mg/Tag traten sogar signifikant weniger ischämische Schlaganfälle auf. Ähnlich häufig waren Nebenwirkungen, wie schwere Blutungen unter DOAK-Therapie im Vergleich zu Warfarin. Es zeigten sich zwar vermehrt gastrointestinale Blutungen unter Dabigatran (2x 150 mg/Tag), Rivaroxaban und Edoxaban (1x 60 mg/d) im Vergleich zu Warfarin, allerdings waren intrazerebrale und lebensbedrohliche Blutungen unter allen DOAK seltener [13–18]. Dieses günstigere Wirkungs-Risikoprofil der DOAK im Vergleich zu VKA konnte durch weitere Metaanalysen bestätigt werden [12,19]. Daher weitete sich der Einsatz der neuen oralen Antikoagulanzen in den letzten Jahren stetig aus.

Die initiale Indikation für Dabigatran, Rivaroxaban und Apixaban bestand in der Thromboseprophylaxe bei Patienten nach periprothetischen Eingriffen [20–22]. Hinzu kamen die Einsatzgebiete in der Prävention von Thrombembolien bei nicht-valvulärem Vorhofflimmern, wofür Edoxaban 2015 ebenfalls zugelassen wurde [23]. Zusätzlich sind die DOAK „auch zur Therapie und Sekundärprophylaxe von tiefen Venenthrombosen und Lungenembolien zugelassen. Rivaroxaban ist außerdem zur Sekundärprophylaxe nach einem akuten Koronarsyndrom oder „zur Prophylaxe atherothrombotischer Ereignisse bei Patienten mit stabiler koronarer Herzerkrankung oder symptomatischer peripherer arterieller Verschlusskrankung“ zugelassen [2,21,24]. Im Vergleich zum Vorjahr stiegen 2020 die Verordnungen des Thrombin- und der FaktorXa-Inhibitoren um 14% und somit beträgt der Anteil der DOAK an den Verordnungen aller oraler Antikoagulanzen in Deutschland inzwischen 79% und ist 3,8fach so hoch wie der Anteil der VKA [2].

Aufgrund der nun seit einigen Jahren bestehenden klinischen Erfahrung und Bestätigung der Wirksamkeit bei gleichzeitiger Reduktion des Blutungsrisikos wird in der Leitlinie der European Society of Cardiology (ESC) inzwischen die antikoagulatorische Therapie bei nicht-valvulärem Vorhofflimmern ab einem  $CHA_2DS_2-VASc \geq 2$  bei Männern, beziehungsweise  $\geq 3$  bei Frauen, mit einem „DOAK gegenüber VKA bevorzugt empfohlen“ [25].

Einen großen patientenspezifischen Vorteil bringen die DOAK, indem laut Zulassung und internationaler Leitlinien, der Therapieeffekt keine regelmäßigen Laboruntersuchungen erfordert [26,27]. Durch den direkten Wirkmechanismus, der an nur einer spezifischen Stelle der Gerinnungskaskade ansetzt und den geringeren Wechselwirkungen, sind festgelegte Standarddosierungen ohne regelmäßige

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

---

Kontrollen und Anpassungen möglich. Doch für eine suffiziente antikoagulatorische Therapie sind die unterschiedlichen pharmakokinetischen Eigenschaften der einzelnen DOAK dennoch zu beachten. Ein weiterer wesentlicher Vorteil gegenüber den VKA sind die deutlich kürzeren Halbwertszeiten, welche bei Dabigatran 12-14 Stunden, bei Rivaroxaban 7-11 Stunden, und bei Apixaban und Edoxaban circa 12 Stunden betragen. Auch ein schneller Wirkungseintritt nach durchschnittlich zwei Stunden erleichtert einen Therapiebeginn [20–23]. Wohingegen bei Phenprocoumon bis zum maximalen Wirkungseintritt nach zwei bis drei Tagen meist mit einem Heparin überbrückt werden muss [8]. DOAK weisen zwar kaum lebensmittelspezifische Interaktionen auf, dennoch werden einige Wechselwirkungen mit Medikamenten aufgrund von glykoprotein- oder cytochromabhängigen Wechselwirkungen beschrieben. So können beispielsweise Protonenpumpeninhibitoren bei gleichzeitiger Einnahme die Absorption von Dabigatran um bis zu 30% reduzieren [28]. Aufgrund der vor allem renalen Elimination kann insbesondere bei Dabigatran durch eine Niereninsuffizienz die Plasmakonzentration deutlich ansteigen. Es besteht eine Kontraindikation bei Dabigatran ab einer Kreatinin-Clearance < 30 ml/min. Lediglich Rivaroxaban, Apixaban und Edoxaban sind bei einer Niereninsuffizienz Grad 4 noch zugelassen [25]. Um durch einen Plasmaspiegelanstieg ein erhöhtes Blutungsrisiko zu vermeiden muss daher bei Niereninsuffizienz, aber auch bei erhöhtem Alter (> 80. Lebensjahr) oder bestimmten körperlichen Konstitutionen (< 60 kg Körpergewicht) eine Dosisanpassung erfolgen [19,27]. Laborchemische Kontrollen der DOAK-Plasmaspiegel sind nicht nötig, aber unter bestimmten Umständen und in speziellen Situationen sinnvoll [29]. Für die Interpretation der Plasmakonzentration sind hierbei der Zeitpunkt der Medikamenteneinnahme und die damit verbundenen Spitzen- und Talspiegel zu berücksichtigen.

Seit 2016 ist mit Idarucizumab ein spezifisches Antidot für den Thrombin-Inhibitor Dabigatran auf dem europäischen Markt. Idarucizumab ist sowohl vor notfallmäßig erforderlichen Eingriffen oder Interventionen und bei lebensbedrohlichen Blutungen zugelassen. Im Rahmen von Notfallsituation werden durch die Gabe dieses monoklonalen Antikörpers Dabigatranmoleküle mit sofortiger Wirkung irreversibel gebunden [30,31].

Mit Andexanet alfa steht seit 2019 nun auch für die beiden Faktor-Xa-Inhibitoren Rivaroxaban und Apixaban ein Antidot zur Verfügung. Durch spezifische kompetitive

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

---

Bindung an die beiden direkten FXa-Inhibitoren ist deren antikoagulatorische Wirkung nicht mehr vorhanden [32,33]. Die Zulassung beschränkt sich auf die Anwendung bei volljährigen Patienten, die mit Rivaroxaban oder Apixaban behandelt werden und unter einer lebensbedrohlichen oder nicht kontrollierbaren Blutung leiden. Allerdings erfolgte bisher noch keine Zulassung für den Wirkstoff Edoxaban sowie den Einsatz vor einer geplanten oder auch ungeplanten Operation [34].

Mit Ciraparantag wird ein weiteres Antidot mit universeller Wirkung gegen direkte FXa-Inhibitoren, direkte Thrombin-Inhibitoren, unfraktioniertes Heparin sowie niedermolekulares Heparin in einer Phase 1-Studie untersucht. So konnte der gerinnungshemmende Effekt von Edoxaban bereits mit einer einzelnen Dosis Ciraparantag antagonisiert werden [35–37]. In Notfallsituationen könnte dieser Wirkstoff somit eine potente Therapie darstellen.

Zum aktuellen Stand werden daher vor allem mithilfe von Idarucizumab und Andexanet alfa das Notfallmanagement in Blutungssituationen erleichtert. Entsprechend der internationalen Gesellschaft für Thrombose und Hämostase (ISTH) wird die Verabreichung entsprechender Antidote bei starken Blutungen unter DOAK erst ab einer Plasmaspiegelkonzentration von über 50 ng/ml empfohlen [38]. Doch ohne das Wissen über das eingenommene DOAK und dessen Plasmakonzentration, kann es durch Verabreichung eines Antidots in einer Unter- oder Überdosis zu gegenteiligen Effekten führen [39]. Einen großzügigen Einsatz der Antidote verhindert zudem der deutliche Kostenfaktor und dass nicht jedes Klinikum diese bereithalten kann [38].

Mit zunehmender Anzahl an Patienten unter DOAK Therapie fordern Kliniker vermehrt eine Möglichkeit der Detektion sowie eine Form des Monitorings [40]. Insbesondere in Notfallsituationen oder vor dringlichen Interventionen ist eine Aussage über den vorliegenden gerinnungshemmenden Effekt von Wichtigkeit [41].

## **1.2 Methoden der Gerinnungsdiagnostik**

Die Hämostase stellt einen komplexen Vorgang im menschlichen Körper dar. Da zur Blutstillung vaskuläre, zelluläre und plasmatische Mechanismen zählen, lässt sich die Gerinnungssituation nicht mit einem einzelnen Messverfahren oder Messinstrument bestimmen [42].

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

---

Die vier Phasen der Blutgerinnung teilen sich folgendermaßen auf: Primäre Hämostase, Thrombingenerierung, Gerinnselfbildung mit Clotstabilisierung und Fibrinolyse [43].

Einen Teil der Routinediagnostik bei Patienten stellt die Durchführung von Gerinnungstests dar. Auf Basis dieser Werte werden häufig entweder weitere Untersuchungen oder therapeutische Maßnahmen veranlasst. Eine Reihe unterschiedlicher Tests steht hier für die Diagnostik zur Verfügung. So entscheidet die Thrombozytenzahl als numerischer Richtwert beispielsweise über die Durchführbarkeit bestimmter Punktionen oder operative Manipulationen, detektiert jedoch nicht den funktionellen Zustand der Thrombozyten. Zur Darstellung der plasmatischen Gerinnung dienen die Prothrombinzeit (Quick-Wert/INR) und die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) welche die Aktivität verschiedener Gerinnungsfaktoren gleichzeitig erfassen [44]. Hierbei wird die extrinsische Gerinnungskaskade durch die INR beziehungsweise den, in Deutschland üblichen, Quick-Wert repräsentiert, während die intrinsische Kaskade durch die aPTT abgebildet wird. Die Thrombinzeit (TZ) stellt die gemeinsame Endstrecke dar. Ergänzt wird die Diagnostik häufig durch die Bestimmung von Fibrinogen.

Die klassischen Gerinnungsvariablen wie Quick und aPTT sind in erster Linie auf die möglichst sensitive Erfassung gerinnungshemmender Medikamente wie unfractioniertem Heparin und Vitamin-K-Antagonisten abgestimmt [45,46]. Eine vollständige quantitative und qualitative Abbildung des Gerinnungsprozesses - insbesondere in der akuten Blutungssituation - ist somit durch Standardlabortests nicht möglich und war für diese Anwendung letztlich nicht vorgesehen [47]. Hinzu kommt die lange Bearbeitungszeit aufgrund präanalytischer Arbeitsschritte, bis Ergebnisse der plasmatischen Gerinnung vom Zentrallabor zur Verfügung stehen. Dies kann in Studien mediane 53 oder sogar 78 Minuten in Anspruch nehmen [48,49].

Zahlreiche Studien untersuchten die Testempfindlichkeit der gängigen plasmatischen Gerinnung auf die direkten oralen Antikoagulanzen. Doch abhängig vom Plasmaspiegel, den Testreagenzien und den Messinstrumenten variiert die Aussagekraft stark [40,41,50–53]. Die aPTT kann bei Dabigatran-Einnahme verlängert sein, eine normwertige aPTT schließt jedoch eine relevante Plasmakonzentration nicht aus. Lediglich die TZ ist schon bei geringen Plasmakonzentrationen von Dabigatran

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

---

signifikant verlängert [50]. Mit bestimmten Reagenzien kann eine isoliert erhöhte INR auf eine erhöhte Plasmakonzentration von Rivaroxaban hinweisen. Letztlich lassen sich Rivaroxaban, Apixaban und Edoxaban, neben der Massenspektrometrie, nur mit spezifisch kalibrierten Anti-Xa-Tests bestimmen [54]. Für eine verlässliche Plasmakonzentrationsbestimmung von Dabigatran stehen die kalibrierte Ecarin-Gerinnungszeit (ECT), die verdünnte Thrombinzeit (dTT) sowie spezifische chromogene Anti-IIa-Tests zur Verfügung [55,56].

Trotz des niedrigeren Risikos einer Blutung unter DOAK-Therapie mit einer Inzidenz von 2-3%, wird es mit Zunahme der Verordnungen vermehrt Patienten geben, die spontane, traumatisch-bedingte oder perioperative Blutungen erleiden [19,57–59]. Bis zur Zulassung des ersten Antidot standen den Klinikern in diesen Situationen, außer den allgemeinen Therapierichtlinien für Massivblutungen, vornehmlich Expertenempfehlungen zur Verfügung [27,60]. Bei lebensbedrohlichen Blutungen in Akutsituationen und ohne Kenntnis über das eingenommene DOAK kann die Gabe von PPSB oder aktiviertem PPSB (aPPSB) eine Therapieoption darstellen [61,62]. Bei einer nachgewiesenen Überdosierung mit Dabigatran – ohne lebensbedrohliche Blutung – kann man die Senkung der Plasmakonzentration durch Hämodialyse erwägen [63]. Diese Option steht bei den FXa-Inhibitoren aufgrund ihrer deutlich höheren Plasmaproteinbindung von 55-95% im Vergleich zu 35% jedoch nicht zur Verfügung [27].

Trotz der vorteilhaften fehlenden Notwendigkeit einer laborchemischen Therapiekontrolle stellte sich gleichzeitig auch der damit verbundene Nachteil dar. Da mit Markteinführung der DOAK noch keine spezifischen Tests zur Messung der Plasmakonzentration existierten, fehlte Klinikern in Blutungssituationen aber auch vor elektiven Eingriffen ein wertvolles Werkzeug zur Einschätzung bzw. Initiierung einer evidenzbasierten Therapie [41]. Zahlreiche Studien untersuchten die Möglichkeit DOAK mittels Standardlabortest zu detektieren [41,50,52,53,64,65]. Wie bereits im Kapitel 1.2 beschrieben, ist die Aussagekraft gering und letztlich stellt die Messung der Plasmakonzentrationen von Dabigatran, Rivaroxaban, Apixaban und Edoxaban mithilfe spezifisch kalibrierter dTT, ECA, Anti-IIa- beziehungsweise Anti-FXa-Assays, neben dem Goldstandard der Massenspektrometrie, die bevorzugte Methode dar [66]. Allerdings stehen nicht jedem Labor in der klinischen Routine diese Möglichkeiten zur Verfügung. Außerdem stellt sich insbesondere in Notfallsituationen mit fehlender

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

---

Möglichkeit einer Medikamentenanamnese die generelle Frage: Liegt überhaupt eine Form der oralen Antikoagulation vor [41]? Da sich vor allem in der Traumatologie der Einsatz der Viskoelastometrie als *Point-of-Care-Testing* (POCT) zur Früherkennung und Überwachung gerinnungstherapeutischer Maßnahmen etablierte [67], ist es nicht verwunderlich, dass dessen Nutzen auch in der DOAK-Detektion untersucht wird.

### **1.3 Viskoelastometrie**

Im klinischen Alltag stellen Blutungskomplikationen nach wie vor eine große Herausforderung dar. Zum einen durch das bereits oben aufgeführte zunehmende Angebot an antikoagulatorischen Wirkstoffen zum anderen durch die zunehmend zurückhaltende Transfusionsbereitschaft aufgrund nicht unwesentlicher Nebenwirkungen[42]. Eine angeborene Gerinnungsstörung ist im Idealfall durch eine entsprechende Gerinnungsanamnese zu eruieren und eine zielgerichtete Therapie mit beispielsweise Faktorenkonzentraten möglich [68,69]. Bei perioperativen oder traumatisch bedingten Blutungen handelt es sich jedoch meist um ein zeitlich dynamisches und multifaktorielles Geschehen [67]. Ziel ist es, die Störung der Hämostase durch den Verbrauch und Verlust von Gerinnungsfaktoren sowie eingenommener Medikamente auf die Gerinnung, durch die oben genannte Gerinnungsanalytik abzubilden. Therapieentscheidungen müssen häufig basierend auf Daten der hämostaseologischen Globaltests getroffen werden. Testparameter, deren Nutzen initial lediglich die Darstellung eingeleiteter Therapien waren, sind nicht dafür ausgelegt, die relevanten und umfassenden Ergebnisse zu liefern, die häufig in kritischen Situationen zeitnah benötigt werden. Eine Abbildung des Gerinnungszustandes findet hierbei nur unvollständig und mit deutlicher Verzögerung statt.

Daher wurde schon früh nach diagnostischen Alternativen beziehungsweise Ergänzungen gesucht und so beschrieb bereits 1948 Hellmut Hartert in Heidelberg erstmalig das Prinzip der Thrombelastographie [70]. Im Gegensatz zu den klassischen Gerinnungsparametern, bietet diese durch eine Vollblut-Messung zusätzliche Informationen über die Gerinnungsbildung, -festigkeit und dessen Stabilität sowie Lyseverhalten [42]. Aufgrund einer starken Empfindlichkeit gegenüber Erschütterungen und der damals aufwändigen Handhabung des Hellige-Thrombelastographen fand diese Methode trotz ihrer neuen analytischen Informationen zunächst im klinischen Alltag kaum Anwendung [42]. Doch das Prinzip

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

---

der Thrombelastographie wurde im amerikanischen Raum bis zum TEG®-System (Haemonetics Corporation, Niles, IL, USA) weiter optimiert und in Deutschland in den 1990er Jahren mit einem ähnlichen Verfahren, der Rotationsthrombelastometrie (ROTEM®, Tem International GmbH, München, Deutschland), erweitert [71]. Generell werden in der Viskoelastometrie Veränderungen der Viskoelastizität im Vollblut und somit die Qualität des Gerinnsels gemessen und graphisch gegen die Zeit aufgetragen. In der klassischen Thrombelastographie und der Rotationsthrombelastometrie wird Vollblut in eine kleine Küvette (Cup) gegeben. Bei der Thrombelastographie hängt ein Stempel frei in diesem Cup, welcher sich alternierend  $4,75^\circ$  um die Längsachse bewegt. Sobald die Gerinnung einsetzt, bilden sich Fibrinfäden zwischen diesem Stempel und der Cup-Wand und die Bewegung zwischen Stempel und Cup wird entsprechend ihrer Festigkeit zunehmend gehemmt und als Kurve in Abhängigkeit von der Zeit aufgezeichnet [42]. Im Gegensatz hierzu wird bei der Rotationsthrombelastometrie der Stempel mit Hilfe einer Feder alternierend bewegt und der Cup bleibt fixiert. Doch auch hier wird die Bewegungshemmung durch sich bildende Fibrinfäden erfasst und graphisch als Kurve gegen die Zeit dargestellt [42]. Die ursprünglich verwendeten Vollblut-Proben wurden zur besseren Standardisierung durch die Verwendung von Citratblut ersetzt und durch die Zugabe bestimmter Aktivatoren wurde die Messmethodik modifiziert [72]. Die Rotationsthrombelastometrie ist inzwischen nahezu unempfindlich gegenüber Erschütterungen, bedienerfreundlicher und insbesondere für eine patientennahe Anwendung im Sinne des „Point-of-Care-Testing“ geeignet [73]. Erste Messergebnisse können nach initialer Zugabe von Reagenzien, Aktivatoren und Inhibitoren bereits nach fünf bis zehn Minuten vorliegen und eine erste Aussage über die Gerinnselbildung und hieraus folgende Therapieentscheidungen getroffen werden [73]. Das TEG®-System bietet dem Untersucher hierfür bis zu vier Testkanäle, welche gleichzeitig Messungen durchführen können. Mit dem ROTEM® können ebenfalls vier Analysen simultan ablaufen. Mit Hilfe spezifischer Testreagenzien können zudem einzelne Teile der Hämostase quantifiziert und interpretiert werden. Dieser zeitnahe bettseitige Informationsgewinn stellt eine wertvolle Ergänzung zur laborchemischen Gerinnungsanalytik dar [74]. Die Weiterentwicklung weg von der Pipettierarbeit hin zu kartuschenbasierten, vollautomatischen Systemen ermöglicht zudem die Anwendung ohne aufwändiges Training. Inzwischen werden viskoelastische Analysen aufgrund ihrer schnellen Verfügbarkeit bevorzugt zur Diagnostik bei Blutungssituationen in der

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

---

Notfallmedizin oder im operativen Setting herangezogen [47,67,74]. Doch in den letzten zwei Jahrzehnten hat die Anwendung der Viskoelastometrie durch ihre ganzheitliche Sicht auf den Gerinnungsprozess auch in weiteren klinischen Bereichen zugenommen [75]. Dass durch Point-of-Care basierte Hämotherapie der Einsatz allogener Transfusionsprodukte und somit Kosten reduziert werden können stellt einen zusätzlichen positiven Effekt dar [76].

Durch die inzwischen weit verbreitete Anwendung der POCT-basierten Viskoelastometrie auf der einen Seite und den vermehrten Einsatz der DOAK auf der anderen Seite, stellte sich schon bald die Frage, ob diese Tests einer Beeinflussung unterliegen und eine Detektion möglich sei [77–81].

### **1.3.1 ClotPro®**

In der vorliegenden Arbeit kam eine Weiterentwicklung der viskoelastometrischen Gerinnungsanalytik zum Einsatz: Das ClotPro®-Gerät der Firma enicor GmbH (München, Deutschland) welches durch das Unternehmen Haemonetics GmbH (München, Deutschland) vermarktet wird. Die darin angewandte Messtechnik ist vergleichbar mit der des TEG®- und ROTEM®-Systems der ersten Generation. Beim ClotPro® wird der Stempel (Pin) fixiert und auf die Küvette (Cup) eine Rotationskraft ausgeübt. Diese Drehbewegung wird schließlich elektronisch gemessen und übertragen. Die für dieses Messprinzip initial aufwändige Pipettierarbeit konnte durch die Firma Enicor mit der sogenannten „Active Tip“-Technologie vereinfacht werden. In den spezifischen Pipettenspitzen sind bereits die benötigten Mengen des Reagenzes in Trockenform enthalten. Durch das Aufnehmen der Blutmenge mit Hilfe einer automatischen Pipette wird das Reagenz gelöst und letztlich die Probe in den Cup abgegeben. Mit Aufsetzen des Pins wird die Messung gestartet [75]. Die Drehung der Küvette wird kapazitiv (im Vergleich zu bisher optisch) erkannt, an den Computer übermittelt und wie gewohnt sowohl numerisch als auch grafisch dargestellt. Mit seinen sechs Testkanälen und einer Erweiterung der Testreagenzien in Bezug auf Handhabung und Untersuchungsspektrum, bietet das ClotPro® eine weitere Ergänzung auf dem Markt des Point-of-Care-Testings [82]. Eine ausführlichere Beschreibung der Durchführung folgt im Kapitel 2.2.5.

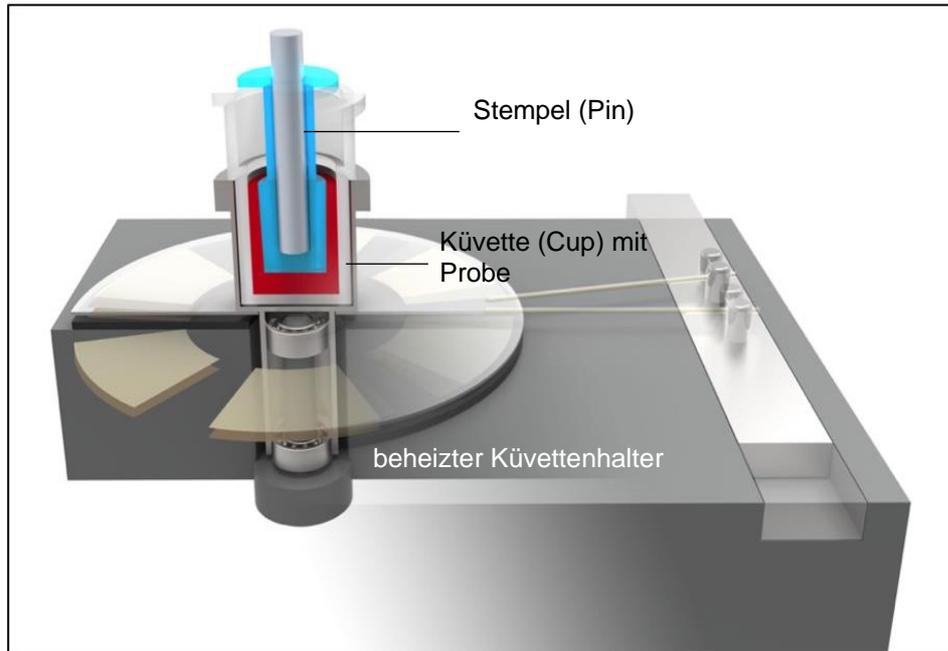


Abbildung 1 Messprinzip ClotPro®. Mit freundlicher Genehmigung von Enicor GmbH, München [82].

### 1.3.2 Grafische Darstellung

Mittels ClotPro® Software wird die gemessene zunehmende Clotfestigkeit grafisch dargestellt. In Echtzeit wird die Amplitude in Millimetern gegen die Zeit in Minuten aufgezeichnet. Abbildung 2 zeigt beispielhaft die Grafik einer Hyperfibrinolyse mit den jeweiligen Parametern [82].

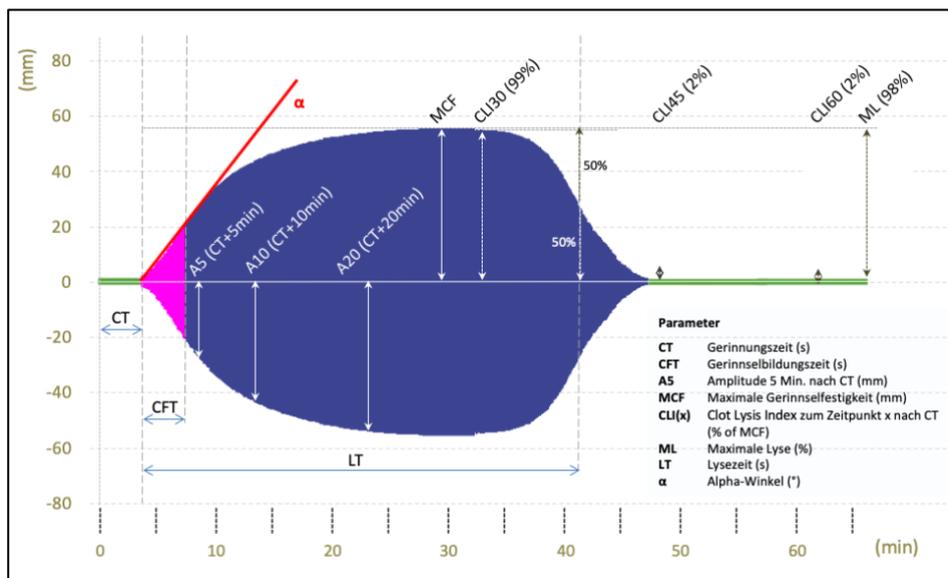


Abbildung 2 grafische Darstellung der Viskoelastometrie. Mit freundlicher Genehmigung von Enicor GmbH, München [82].

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

---

### **1.3.3 Viskoelastometrische Parameter**

Im Folgenden werden die einzelnen Variablen der Viskoelastometrie und ihre Bedeutung in Bezug auf die Gerinnungskaskade erklärt. Entsprechend der Kinetik der Gerinnungsvorgänge werden zunächst Werte der Gerinnungsaktivierung und Dynamik dargestellt, gefolgt von Festigkeits- und Lyse-Parametern [82].

Die *Clotting Time* (CT) beschreibt die Gerinnungszeit in Sekunden (s) von der Rekalzifizierung der Vollblutprobe bis sich ein Gerinnsel mit einer Amplitude von 2 mm gebildet hat [82]. In der Gerinnungskaskade spiegelt dies die Thrombinbildung bis zur beginnenden Fibrinbildung wider und ist somit vergleichbar mit den hämostaseologischen Globaltests. Abhängig vom verwendeten Testreagenz ähnelt die CT der INR (im EX-test) bzw. der aPTT (im IN-test). Eine entsprechende Verlängerung der CT ist analog zur Einnahme bestimmter Antikoagulanzen, wie beispielsweise Heparin oder Vitamin-K-Antagonisten.

Die *Clot Formation Time* (CFT) steht für die Zeit in Sekunden von Beginn der Gerinnselbildung, also ab CT bis eine Gerinnselhaftigkeit von 20 mm erreicht wird und die Fibrinpolymerisation durch Thrombozyten und FXIII stattfindet.

Der *Alpha-Winkel* ( $\alpha$ ) entspricht der Kurvensteigung im Bereich der CFT als Tangente durch den 2 mm Amplitudenpunkt. Er wird in Grad ( $^{\circ}$ ) angegeben und beschreibt ebenfalls die Kinetik der Gerinnselbildung [82].

Die A5- und A10-Werte sind ein Maß für die Gerinnselhaftigkeit in Millimetern 5 bzw. 10 Minuten nach der CT. Diese korrelieren exzellent mit der später erreichten Gesamtfestigkeit (Maximum Clot Firmness (MCF)) und erlauben somit eine frühzeitige Abschätzung der Gerinnselbildung

Die MCF gibt die maximale Gerinnselhaftigkeit an. Sie ist definiert als die maximale Amplitude in Millimetern und ein Maß für die Festigkeit des Clots. Die zunehmende Verfestigung entsteht durch polymerisiertes Fibrin, Thrombozyten und den Faktor XIII.

Die *maximale Lyse* (ML) gibt die Abnahme der Amplitude durch die Gerinnselauflösung im Verhältnis zur MCF in Prozent (%) an.

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

---

Die *Lysis onset Time* (LOT) gibt die Zeit in Sekunden von der CT bis 15% der maximalen Festigkeit (MCF) bereits lysiert sind.

Die *Lysis Time* (LT) gibt wiederum den Verlust der MCF von 50% ab der CT in Sekunden an.

#### **1.3.4 Reagenzien**

Im Gegensatz zu bisherigen Messmethoden, muss das Reagenz nicht zur Probe hinzugefügt werden, sondern befindet sich bereits als Trockensubstanz in der zugehörigen Pipettenspitze, die so genannte „Active Tip“-Technologie. Während des Pipettierens der Blutprobe wird das Reagenz gelöst und aktiviert [82].

ClotPro® bietet neun Tests. Die bekannten Assays: EX-test, IN-test, FIB-test, AP-test, und HI-test sowie neue Reagenzien für ein Medikamenten-Screening: RVV-test, ECA-test, TPA-test und NA-test [82].

Die unterschiedlichen Testansätze ermöglichen die Betrachtung und Beurteilung einzelner Abschnitte sowie Bestandteile der Gerinnungskaskade ohne und unter Beeinflussung durch Antikoagulanzen. In der vorliegenden Arbeit wurde mit fünf der neun angebotenen Tests gearbeitet und nachfolgend erklärt:

Im *EX-test* wird die extrinsische Gerinnungskaskade und ihre Wechselwirkung mit Thrombozyten im Citratblut beurteilt. Mittels  $\text{CaCl}_2$  wird die Probe im EX-test rekalkifiziert und zur Gerinnungsaktivierung rekombinanter Gewebefaktor (tissue factor) verwendet. Pathologische Werte im EX-test können ein Hinweis auf einen Faktorenmangel der extrinsischen Gerinnung (Faktor VII) und der gemeinsamen Endstrecke (Faktoren I, II, V, X, XIII) sein [82].

Im *IN-test* werden die Faktoren der intrinsischen Kaskade (Faktor VIII, IX, XI, XII) sowie die gemeinsame Endstrecke analysiert. Auch hier rekalkifiziert  $\text{CaCl}_2$  die Probe und als Aktivator dient in diesem Ansatz Ellagsäure. Der IN-test ist somit sensitiv auf Heparin und Faktor VIII. Pathologische Werte sind vor allem bei angeborenem oder erworbenem Mangel an Gerinnungsfaktoren der intrinsischen Gerinnung und bei Antikoagulation mit Heparin zu erwarten [82].

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

---

Der *ECA-test* enthält in seinem Reagenz den Thrombinaktivator Ecarin. Ecarin wird aus dem Gift der Sandrasselotter (*Echis carniatus*) gewonnen und aktiviert Prothrombin aus der Citratblut-Probe und ist somit sensitiv für den direkten Thrombininhibitor Dabigatran [82].

Der *RVV-test* dient dem Nachweis von Faktor-Xa-Inhibitoren im Citratblut. RVV steht für das Russells Viper Venom-Reagenz, das als Reagenz in der Probe den Faktor X zu FXa aktiviert. FXa aktiviert wiederum die Gerinnung und somit die Gerinnselformung [82].

Mit dem *TPA-test* lassen sich Antifibrinolytika im Citratblut nachweisen. Durch den potenten Plasmin-Aktivator, rekombinanter Gewebepasminogenaktivator (r-tPA), wird die Fibrinolyse im Reagenz ausgelöst [82].

Zusätzlich stehen noch diese vier weiteren Tests zur Verfügung, welche jedoch nicht Teil der vorliegenden Arbeit waren:

Der *FIB-test* dient der Untersuchung der Fibrinpolymerisation und der Fibrinogenkonzentration.

Der *HI-test* entspricht einem IN-test mit Heparin-Neutralisierung durch Heparinase und dient der Erfassung der intrinsischen Gerinnungskaskade bei mit Heparin behandelten Patienten.

Mit Hilfe des *AP-test* kann unabhängig von der Fibrinolyse die extrinsische Kaskade beurteilt werden. Dies geschieht in vitro durch Hemmung der Fibrinolyse mittels Aprotinin, einem Plasmin-Antagonisten.

Durch den *NA-test* lässt sich nicht aktivierte Gerinnung im Citratblut nachweisen [82].

## **1.4 Zielsetzung**

Durch den in den letzten Jahren vermehrten Einsatz von DOAK werden Optionen gesucht, um mittels Visokoelastometrie direkte orale Antikoagulanzen zu detektieren. Für die Detektion und mögliche Differenzierung wurden modifizierte Testreagenzien entwickelt. Im Rahmen der von mir hier zur Begutachtung vorgelegten Arbeit wurde analysiert, ob mittels ClotPro® und den hier verfügbaren modifizierten Testen wie RVV-Test und ECA-Test DOAK detektiert und zu anderen Koagulopathien differenziert werden können. Hierfür haben wir eine prospektive Beobachtungsstudie durchgeführt. Zunächst wurden in vitro Blutproben gesunder Probanden mit DOAK versetzt und im zweiten Teil Patienten unter DOAK-Einnahme gemessen.

Wir testeten die Hypothesen, dass

1. es einen Zusammenhang der einzelnen DOAK-Dosis und der damit einhergehenden Veränderung der viskoelastometrischen Parameter gibt. Dies wird in Bezug auf Korrelation und Zusammenhang geprüft [83].
2. es mit Hilfe der einzelnen Tests eine Detektionsmöglichkeit der DOAK und weiterer Antikoagulanzen gibt [83].

## **2 Material und Methoden**

### **2.1 Studiendesign**

Die Studie wurde durch die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität geprüft und genehmigt (Nr.: 17-525-4) sowie in der Datenbank deutscher klinischer Untersuchungen registriert (ID: DRKS00015302). Die Grundsätze der Deklaration von Helsinki in der aktuellen Fassung wurden befolgt. Bei der vorliegenden Dissertation handelt es sich um eine prospektive monozentrische klinische Beobachtungsstudie.

### **2.2 Studienablauf**

Die vorliegende Studie unterteilt sich in einen in vitro- und einen ex vivo Teil.

Der in vitro Studienteil wurde mit den Daten und Blutproben von 10 gesunden Probanden durchgeführt. Für den ex vivo Teil wurden insgesamt weitere 10 gesunde Probanden und 70 Patienten eingeschlossen. Die Erhebung der Daten und Durchführung der Messungen fand im Zeitraum von November 2018 bis Dezember 2019 statt. Im Folgenden werden das Patienten- und Probandenkollektiv, die Ein- und Ausschlusskriterien sowie die Durchführung der einzelnen Messungen beschrieben.

Nach Autorisierung durch die Ethikkommission der LMU München erfolgte die Rekrutierung sowie mündliche und schriftliche Aufklärung der Probanden und Patienten.

#### **2.2.1 Probandenkollektiv**

Für die Messungen wurde venöses Blut von gesunden Probanden beider Geschlechter entnommen. Voraussetzung war, dass keine gerinnungsbeeinflussenden Medikamente innerhalb der letzten 14 Tage eingenommen wurden und die Teilnehmer/-innen in die Risikogruppe ASA I oder ASA II (Risikoklassifikation der American Society of Anesthesiologists) einzustufen waren.

Einschlusskriterien:

- altersunabhängig aber > 18 Jahre
- männlich, weiblich, divers
- ASA I - ASA II

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

---

- keine Einnahme von Antikoagulanzen < 14 Tage
- keine bekannten angeborenen Gerinnungsstörungen

### **2.2.2 Patientenkollektiv**

Es handelte sich um erwachsene stationäre oder ambulante Patienten des Klinikums der Universität München. Die Patienten sollten langfristig, d.h. mindestens 72 Stunden, auf ein DOAK, Phenprocoumon, niedermolekulares Heparin (NMH) oder unfractioniertes Heparin (UFH) eingestellt sein. Nach schriftlichem Einverständnis wurden Patienten beider Geschlechter, die seit längerer Zeit eine Form der Antikoagulation einnahmen, in die Studie eingeschlossen.

Einschlusskriterien:

- Einnahme Antikoagulation > 72 Stunden
- männlich, weiblich, divers
- ASA I - ASA III
- altersunabhängig aber > 18 Jahre

Ausschlusskriterien wurden wie folgt definiert:

- Einstufung in die Risikogruppen ASA IV und V
- kongenitale oder bekannte Gerinnungsstörung (z.B. Von-Willebrand-Syndrom)
- mechanischer Herzklappenersatz
- Myelodysplastische Syndrome
- gleichzeitige Einnahme von Clopidogrel oder Prasugrel
- gleichzeitige Einnahme mehrerer Antikoagulanzen (im Rahmen des Bridgings etc.)
- Einnahmedauer < 72 Stunden

Ein Ausschluss von der Studienteilnahme erfolgte, wenn eines oder mehrere der oben genannten Kriterien zutrafen. Die zusätzliche Einnahme des Thrombozytenaggregationshemmers Acetylsalicylsäure (ASS) in der Dosierung von 100 mg pro Tag stellte kein Ausschlusskriterium dar. Betreffendes Präparat, letzter Einnahmezeitpunkt sowie die Patientencharakteristika und Vitalparameter zum Blutabnahmezeitpunkt wurden anonym dokumentiert.

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

---

### **2.2.3 Datenerhebung**

Von jedem Probanden und Patienten wurden folgende demographische und klinische Variablen erhoben: Geburtsdatum, Geschlecht, Körpergröße (cm), Gewicht (kg), Vitalparameter (Herzfrequenz, Blutdruck (mmHg, Messung via NIBP), Sauerstoffsättigung (%)). Zudem wurden noch Angaben über Vorerkrankungen, die bestehende Dauermedikation und die Indikation zur Einnahme des gerinnungshemmenden Medikaments erfasst. Diese Daten wurden in einen Probanden- bzw. Patientencharakteristika-Bogen eingetragen.

### **2.2.4 Blutentnahme**

Die venöse Blutentnahme erfolgte nach Hautdesinfektion mittels Multifly-Kanüle® (21 Gauge) in S-Monovetten® (Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland).

Im in vitro Studienteil wurden zwei Blutentnahmen an einem Probanden durchgeführt. Eine vormittags und eine nachmittags des gleichen Tags, um zeitnahe Messungen nach der Entnahme zu garantieren.

Entnommen wurden vormittags insgesamt 30 ml Vollblut (1x 4 ml Serum, 1x 3 ml EDTA, 1x 3 ml Citrat, 4x 5 ml Citrat) und nachmittags erneut 20 ml (4x 5 ml Citrat).

Einmalig zu Beginn, erfolgte die Bestimmung folgender Laborparameter in der klinischen Chemie des Klinikums Großhadern: Harnstoff (mg/dl), Kreatinin (Jaffé) (mg/dl), GFR (CKD-EPI) (ml/min), Albumin (g/dl), Leukozyten (G/l), Erythrozyten (T/l), Hämoglobin (g/dl), Hämatokrit (l/l), MCV (fl), MCH (pg), MCHC (g/dl), Thrombozyten (G/l), Normoblasten (/100 Leu), RDW-CV (%), PDW (fl), MPV (fl), Quick-Wert (%), INR, aPTT (LA-sensitiv) (sec), aPTT-Ratio, Fibrinogen (Clauss) (mg/dl), Thrombinzeit (TZ) (sec).

Die Blutproben für die klinische Chemie und Visokoelastometrie wurden direkt für die Analysen verwendet, wobei die Citrat-Proben für die ClotPro® Messungen bei 37°C im Wärmeblock aufbewahrt und nur jeweils für die Inkubation entnommen wurden.

Im ex vivo-Studienteil erfolgte die einmalige Blutentnahme während der konstanten Medikamentengabe aber bewusst zu einem von der Einnahme unabhängigen Zeitpunkt. Somit konnte der klinische Alltag mit oftmals unbekanntem Einnahmezeitpunkten oraler Antikoagulanzen bei notfallmäßigen Eingriffen und Blutungen nachempfunden werden. Bei den unterschiedlichen

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

---

Gerinnungsmedikamenten und den patientenspezifischen Einnahmezeitpunkten wurden somit sowohl Tal- als auch Spitzenspiegel erfasst.

Insgesamt wurden 20 ml Vollblut entnommen. Zur Blutentnahme wurden S-Monovetten® (Serum 1x 4 ml, Citrat 1x 3 ml und 2x 5 ml, EDTA 1x 3 ml) verwendet. Die venöse Blutentnahme erfolgte mit einer Multifly-Kanüle® (21 Gauge). Die Serum-EDTA- und eine Citrat-Monovette wurden unmittelbar im Zentrallabor des Klinikums Großhadern ausgewertet. Hier erfolgte ebenfalls die Bestimmung der bereits oben aufgelisteten Parameter. Ergänzt wurden diese Laborwerte durch die Bestimmung der jeweiligen DOAK-Plasmakonzentration, gemessen anhand der spezifischen Anti-IIa bzw. Anti-Xa-Konzentrationen.

Aus den beiden weiteren Citrat-Monovetten erfolgte die viskoelastometrische Messung via ClotPro® sowie die Asservierung von Citratplasma.

### **2.2.5 Viskoelastometrie via ClotPro®**

In der vorliegenden Arbeit wurden die folgenden viskoelastometrischen Messungen mit dem ClotPro® durchgeführt. Eine genauere Beschreibung sowie Grafik und Definition der Parameter finden sich in Kapitel 1.3.1. bis 1.3.4.

Für die Analysen mit ClotPro® wurde Citratblut verwendet und die Messungen erfolgten innerhalb von zwei Stunden nach Blutentnahme. Fünf Kanäle mit den ausgewählten fünf unterschiedlichen Tests konnten gleichzeitig durchgeführt werden. Um das Blut auf eine gleichmäßige und einheitliche Messtemperatur zu bringen, wurde die 5 ml Citrat-Monovette für zehn Minuten in den vorgeheizten (37°C) Messblock gestellt. Nach Starten des Programms am ClotPro® Gerät wurden die gewünschten Kanäle ausgewählt und die Cups in die jeweiligen Aussparungen im Messblock eingefügt. Um eine gleichmäßige Durchmischung des Blutes in der Citrat-Monovette zu garantieren, wurde diese vor dem Pipettieren vorsichtig geschwenkt. Mit der elektronischen Pipette und voreingestellten 330 µl wurden nun die passende Pipettenspitze zum jeweiligen Test-Kanal aufgesetzt und die erforderlichen 330 µl Citratblut aufgenommen und in den Cup gegeben. Direkt im Anschluss wurde dieses Blut mit der gleichen Spitze wieder eingezogen und erst nach einer kurzen Wartezeit von sechs Sekunden, das nun mit dem Reagenz vermischte Blut, abschließend wieder in den Cup gegeben. Durch Aufsetzen des Pins auf den Cup wurde die gewünschte Messung automatisch gestartet. Diesen Ablauf wiederholte man mit den weiteren

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

---

Mess-Kanälen und den zugehörigen Pipettenspitzen beziehungsweise Reagenzien. Jede Messung lief für 75 Minuten (4500 Sekunden) und wurde dann automatisch abgeschlossen und manuell validiert.

Messfehler können auftreten, wenn sich Blutbläschen am Rande des Cups bilden und es durch Antrocknung zu einer frühzeitigen "Verklottung" zwischen Cup und Pin kommt. War dies der Fall, wurde diese Messung abgebrochen und mit dem Citratblut aus der gleichen Monovette eine erneute Messung wiederholt.

## **2.3 Dosis-Wirkungskurven in vitro**

Im in vitro Studienteil wurden Dosis-Wirkungskurven für den Faktor-IIa-Inhibitor Dabigatran und den neuesten der Faktor-Xa-Inhibitoren Edoxaban (n = 10) erstellt. Dabigatran und Edoxaban stehen in dieser Studie somit als Stellvertreter der beiden DOAK-Klassen.

### **2.3.1 Ziel-Konzentration der Testsubstanzen**

Je Proband wurde in vitro das Vollblut der Citrat-Monovette in aufsteigender Konzentration mit dem jeweiligen DOAK inkubiert. Analog zu einem Talspiegel, doppelten Talspiegel, 4-fachen Talspiegel, Spitzenspiegel (8-facher Talspiegel) und doppelten Spitzenspiegel (16-facher Talspiegel)[83]. Tabelle 1 gibt eine Übersicht über die entsprechenden DOAK-Konzentrationen.

Tabelle 1 DOAK-Konzentration in aufsteigender Reihenfolge

Konzentration	Dabigatran	Edoxaban
0	0,00 ng/ml	0,00 ng/ml
1	31,25 ng/ml	31,25 ng/ml
2	62,50 ng/ml	62,50 ng/ml
3	125,00 ng/ml	125,00 ng/ml
4	250,00 ng/ml	250,00 ng/ml
5	500,00 ng/ml	500,00 ng/ml

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

### 2.3.1.1 Aliquotierung der Testsubstanzen und Probenherstellung

Die Testsubstanzen wurden als Reinstoff erworben und entsprechend den Herstellerangaben zu Arbeitslösungen verarbeitet. Aus Dabigatran und Edoxaban Tosylate Monohydrate wurden Lösungen mit je der Konzentration von 62,5 ng/µl erstellt. Hierfür wurden 5,03 mg Dabigatran in 100,6 µl ein molarer Salzsäure (HCl) gelöst und mittels deionisiertem Wasser (DI-Wasser) auf eine Konzentration von 62,5 ng/µl verdünnt. 10 mg Edoxaban Tosylate Monohydrate (TargetMol, Biozol, Eching, Deutschland) wurde in 1 ml Dimethylsulfoxid (DMSO) gelöst und ebenfalls mit deionisiertem Wasser auf eine Konzentration von 62,5 ng/µl verdünnt. Die maximale DMSO-Konzentration in den inkubierten Vollblutproben mit Edoxaban lag bei 0,005%.

Gearbeitet wurde mit der Ausgangskonzentration von 62,5 ng/µl und mit 5 ml Vollblut aus der Citrat-Monovette. Damit letztlich jedes Reagenz das gleiche Volumen von 5040 µl enthielt wurde die Volumendifferenz mit DI-Wasser aufgefüllt. Die sechs Kontrollproben wurden für 10 Minuten in einem Wärmeblock bei 37°C inkubiert. Tabelle 2 zeigt die Zusammensetzung der jeweiligen Konzentrationen.

Tabelle 2 Zielkonzentrationen (K0-K5)

	Dabigatran/ Edoxaban	Bei 5 ml Blut (µg)	Konzentration (µg/µl)	Zugabe Dabigatran/ Edoxaban bei 5ml (µl)	Zugabe DI- Wasser (µl)
K0	0,00 ng/ml	0	0,0625	0	40
K1	31,25 ng/ml	0,15625		2,5	37,5
K2	62,50 ng/ml	0,3125		5	35
K3	125,00 ng/ml	0,625		10	30
K4	250,00 ng/ml	1,25		20	20
K5	500,00 ng/ml	2,5		40	0

In einer vorab durchgeführten Testreihe konnte gezeigt werden, dass sowohl die viskoelastometrischen als auch die laborchemischen Gerinnungsparameter in der Vollblutmessung als auch in der K0-Messung (mit der maximalen Menge von 40 µl DI-Wasser) nicht relevant voneinander abwichen.

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

---

### **2.3.2 Durchführung der viskoelastometrischen Messungen**

Für jede Konzentration K0-K5 erfolgten parallele Messungen im EX-, IN-, ECA-, RVV- und TPA-test. Diese wurden innerhalb von zwei Stunden nach Blutentnahme durchgeführt.

### **2.3.3 Klinische Chemie**

Um einen Vergleich zu den erhobenen viskoelastometrischen Daten herstellen zu können wurden die im klinischen Alltag gebräuchlichen Blutbild- und Gerinnungsparameter im Institut für Laboratoriumsmedizin erhoben. Dies geschah initial von jeder Blutabnahme der Probanden sowie im weiteren Verlauf auch von jeder Probe mit jeweils zugefügter DOAK-Konzentration.

Hierfür wurden die einzelnen inkubierten Proben bei 2000 G für 30 Min. zentrifugiert und je 500 µl des entstandenen Citratplasmas in Eppendorfbehältern an die Laboratoriumsmedizin geschickt. Weiteres Citratplasma wurde bei -70 °C asserviert.

## **2.4 DOAK Detektion ex vivo**

Für den ex vivo Teil wurden insgesamt 10 gesunde Probanden und 70 Patienten eingeschlossen.

### **2.4.1 Durchführung der viskoelastometrischen Messungen**

Es erfolgten ebenfalls von jeder Probe Messungen im EX-, IN-, ECA-, RVV- und TPA-test wie bereits unter 2.2.5 beschrieben.

### **2.4.2 Klinische Chemie**

Ebenso erfolgten von der initialen Blutabnahme die Erhebung der Standard-Labortests sowie die Bestimmung der spezifischen DOAK-Konzentrationen.

### **2.4.3 Asservierung**

Die zweite 5 ml Citrat-Monovette diente der Asservierung von Citratplasma. Hierfür wurde diese Monovette für 30 Minuten bei 2000 G zentrifugiert. Dadurch wurde eine obere Plasmaschicht, sowie ein Leukozytensaum und ein Erythrozytensediment gewonnen. Anschließend wurden in zwei Eppendorfbehälter je 750 µl Citratplasma

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

pipettiert. Nach Beschriftung der Behälter mit Codierung und Entnahmedatum erfolgte die Kühlung bei -70°C im Gefrierschrank.

## 2.5 Materialverzeichnis

Material zur venösen Blutentnahme	
Butterfly Multifly®-Set	Sarstedt AG & Co., Nürnbrecht, Deutschland
S-Monovette®: Serum, EDTA, Citrat (3,2%)	

Geräte	
ClotPro Gerät 1-3	enicor GmbH, München, Deutschland
Elektronische Pipette 1-3	enicor GmbH, München, Deutschland
Pipette Eppendorf Reference	Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Wesseling, Deutschland
Pipette Eppendorf Research Plus	
Zentrifuge	Heraeus, Multifuge 3S-R, Hanau, Deutschland
Wärmeblock	Dry Block Heater 3, IKA, Staufen, Deutschland
Tiefkühlschrank	Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, Vereinigte Staaten

ClotPro®-Reagenzien	
IN-, EX-, TPA-, RVV-, ECA-test	enicor GmbH, München, Deutschland

Materialien für den in vitro Studienteil	
Dabigatran	Firma Werfen, München, Deutschland
Edoxaban Tosylate Monohydrate	Firma Biozol, Eching, Deutschland
DMSO, HCL, DI-Wasser	Apotheke Klinikum Großhadern, München, Deutschland

Material und Geräte für die labormedizinische Analyse		
Parameter	Gerätesystem	Verwendete Reagenzien
Kleines Blutbild	XN 1000, XN 9000; Sysmex Europe GmbH, Norderstedt, Deutschland	SULFOLYSER Lysercell WNR Lysercell WDF

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

		Fluorocell WNR Fluorocell WDF Fluorocell PLT Fluorocell RET CELLPACK DCL CELLPACK DFL CELLCLEAN
Quick-Wert INR	Atellica COAG 360, Siemens Healthcare GmbH, Erlangen, Deutschland	Thromborel S
aPTT Lupus	Atellica COAG 360	Dade Actin FSL CaCl <sub>2</sub> Solution
Fibrinogen (Clauss)	Atellica COAG 360	Dade Thrombin Reagent OV Buffer
Thrombinzeit	Atellica COAG 360	Test Thrombin Reagent OV Buffer
Kontrollplasma, Kalibrationsplasma (Dabigatran, Apixaban, Rivaroxaban, Edoxaban)  (Anti-Faktor Xa-Aktivität: UFH & NMH und direkte Faktor Xa Inhibitoren: Rivaroxaban, Apixaban, Edoxaban)	BCS XP, Atellica; Siemens Healthcare GmbH, Erlangen, Deutschland	Anti-Faktor IIa Testkit Hemoclot® Thrombin Inhibitor  Biophen® Heparin LRT  Testkit Biophen® DiXal  Hyphen BioMed, Neuville sur Oise, Frankreich

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

---

## **2.6 Statistik**

Die Ergebnisse der laborchemischen Messungen wurden in Excel-Tabellen übertragen. Die Daten der ClotPro® Analysen wurden ebenfalls als Excel-Datei aus der ClotPro® Software exportiert und in die Gesamttabelle eingefügt.

Die statistische Auswertung wurden mit dem Programmen GraphPad Prism 8.0 (Graph Pad Software, La Jolla, CA, USA) und Microsoft Excel für Mac (Microsoft Corporation, Redmond, USA) durchgeführt.

Keine der Variablen wies aufgrund des geringen Stichprobenumfangs eine Normalverteilung auf. Daher wurden bei den Auswertungen nichtparametrische Tests für nicht-normalverteilte Stichproben herangezogen. Beim Vergleich der Parameter der einzelnen Gruppen diente der Kruskal-Wallis-Test als Äquivalent für die einfache Varianzanalyse (ANOVA). Eine anschließende Prüfung auf multiples Testen erfolgte mittels Dunn's Vergleichstest. Die Zusammenhänge der einzelnen Variablen wurden mit Hilfe der Spearman-Korrelation ausgewertet. Zur Ermittlung der Sensitivität und Spezifität der einzelnen Tests für die jeweilige Substanzgruppe diente die Receiver Operating Characteristic (ROC) Analyse. Der Youden-Index (Sensitivität + Spezifität - 1) wurde zur Bestimmung des Cut-off Wertes zur Differenzierung der einzelnen Gruppen angewendet. Soweit nicht anderweitig angegeben, wurden die Daten als Median mit Interquartilerange (IQR) beziehungsweise Interquartilabstand ( $Q_1$ ,  $Q_3$ ) angegeben. Ein p-Wert  $< 0,05$  wurde als statistisch signifikant gewertet [83].

## **3 Ergebnisse**

Im Folgenden werden die Ergebnisse meiner Studie dargestellt. Die Angaben der demografischen, laborchemischen und viskoelastometrischen Daten werden, soweit nicht anderweitig angegeben, als Median mit 25%- und 75%-Quartil angegeben.

### **3.1 In vitro Studienteil**

#### **3.1.1 Probandengruppe**

Der in vitro-Studienteil fand im Zeitraum von Juni bis August 2019 statt. In diesen zwei Monaten wurden 5 weibliche und 5 männliche Probanden untersucht. Das mittlere Alter der Teilnehmer/-innen betrug 47 (44-55) Jahre. Die Probanden waren mit einer medianen Körpergröße von 178 (168-184) cm bei 76 (67,3-83,0) kg und damit mit einem medianen Body-Mass-Index von 25,8 (22,5-26,5) kg m<sup>-2</sup> normalgewichtig mit einer leichten Tendenz zur Übergewichtigkeit. Drei der Probanden hatten eine Vorerkrankung und wurden somit der ASA-Stufe II zugeordnet.

Tabelle 3 fasst die demographischen und klinischen Daten der zehn Probanden zusammen.

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

Tabelle 3 Probandencharakteristika

	Probanden
n	10
Geschlecht; w/m (%)	5/5 (50/50)
Alter (Jahre)	47 (44-55)
Körpergröße (cm)	178 (168-184)
Gewicht (kg)	76 (67,3-83,0)
BMI (kg m <sup>-2</sup> )	25,8 (22,5-26,5)
RR Systole (mmHg)	130 (124-142)
RR Diastole (mmHg)	79 (72-101)
Herzfrequenz (min <sup>-1</sup> )	67 (54-77)
SpO <sub>2</sub> (%)	98 (97-99)
Dauermedikation (ja/nein)	2/8
ASA Status (%)	
1	7 (70)
2	3 (30)
3	0
4	0
Kreatinin mg dl <sup>-1</sup>	0,9 (0,8-0,9)
GFR (ml min <sup>-1</sup> )	91 (79-103)
Thrombozyten (10 <sup>9</sup> L <sup>-1</sup> )	195 (178-262)
Hb (mg dl <sup>-1</sup> )	14,3 (13,8-14,7)
Hämatokrit (l l <sup>-1</sup> )	0,42 (0,40-0,43)
Fibrinogen (mg dl <sup>-1</sup> )	305 (268-393)
Quick (%)	115 (107-122)
INR	0,90 (0,88-1,00)
aPTT (s)	26 (24-28)
TZ (s)	18 (17-19)

BMI: Body-Mass-Index, RR: Blutdruck nach Riva-Rocci, SpO<sub>2</sub>: Sauerstoffsättigung in der Pulsoxymetrie, ASA: Risikoklassifikation der American Society of Anesthesiologists, GFR: glomeruläre Filtrationsrate, Hb: Hämoglobin, INR: International Normalized Ratio, aPTT: aktivierte partielle Thrombinzeit, TZ: Thrombinzeit

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

### 3.1.2 Vorversuche

Tabelle 4 zeigt eine Auswahl der im weiteren Verlauf näher betrachteten viskoelastometrischen Variablen. Es konnte gezeigt werden, dass die viskoelastometrischen Ergebnisse in der Vollblutmessung als auch in der K0-Messung - mit der maximalen Menge von 40 µl hinzugefügten DI-Wasser - nicht relevant voneinander abwichen.

Alle viskoelastometrisch gemessenen Werte der Kontrollproben "Vollblut" und "K0" lagen in dem vom Hersteller vorgegebenen Referenzbereich (siehe Anhang Referenzwerte ClotPro®).

Tabelle 4 Vorversuche

	CT <sub>EX-test</sub> [s]	A05 <sub>EX-test</sub> [mm]	MCF <sub>EX-test</sub> [s]	CT <sub>IN-test</sub> [s]	CT <sub>TPA-test</sub> [s]	LT <sub>TPA-test</sub> [s]	LOT <sub>TPA-test</sub> [s]	ML <sub>TPA-test</sub> [s]	CT <sub>RVV-test</sub> [s]	CT <sub>ECA-test</sub> [s]
Vollblut	38	47	63	148	32	195	75	94	61	82
K0	36	51	65	154	33	197	75	95	62	80

CT: Clotting time, A05: Gerinnselfestigkeit 5 Minuten nach CT, MCF: Maximale Gerinnselfestigkeit, LT: Lysis Time, LOT: Lysis onset Time, ML: Maximale Lyse, K0: Ausgangskonzentration mit 0,00 ng/ml DOAK.

### 3.1.3 Plasmatische Gerinnung

In der folgenden Tabelle werden die einzelnen Konzentrationen der jeweils hinzugefügten Antikoagulanzen Dabigatran und Edoxaban (K0-K5) und die gemessenen Gerinnungsparameter dargestellt.

Die Werte der K0 Probe (0,00 ng/ml) lagen wie schon bei der Kontrollprobe bei allen Probanden im Normbereich: Im Median lag der Quick-Wert bei 109 % (101-115 %) beziehungsweise bei 108 % (98-114 %), die INR im Median bei 1,0 (0,9-1,0). Die aPTT lag bei medianen 27 s (26-30 s) beziehungsweise bei 28 s (27-29 s) und die TZ bei 19 s (17-19 s). Der mediane Fibrinogenwert betrug 279 mg/dl (258-405 mg/dl) beziehungsweise 271 mg/dl (247-402 mg/dl).

Die INR (1,3, p = 0,0137) bzw. der Quick-Wert (70 %, p = 0,0086) und aPTT (53 s, p = 0,0021) unterschieden sich erstmals signifikant in der mit Dabigatran inkubierten Testprobe der Konzentration K3 (125,00 ng/ml) im Vergleich zur K0. Die, bekanntermaßen sehr sensitive, Thrombinzeit war bereits ab einer zugefügten

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

Konzentration von 62,50 ng/ml Dabigatran (K2) signifikant verlängert (150 s,  $p < 0,0001$ ).

In den mit Edoxaban inkubierten Proben stellten sich signifikant veränderte Werte erst ab der zugefügten Konzentration von 250 ng/ml (K4) ein: Quick-Wert 75% ( $p = 0,0037$ ), INR 1,2 ( $p = 0,0069$ ), aPTT 36 s ( $p = 0,0010$ ). Die Thrombinzeit zeigte in keiner der mit Edoxaban inkubierten Proben eine signifikante Verlängerung im Vergleich zur K0 Probe ( $p > 0,9999$ ).

Tabelle 5 Hämostaseologische Globaltests

Laborwert	Dabigatran ng/ml						Edoxaban ng/ml					
	K0 0,00	K1 31,25	K2 62,50	K3 125,00	K4 250,00	K5 500,00	K0 0,00	K1 31,25	K2 62,50	K3 125,00	K4 250,00	K5 500,00
Quick [%]	109 (101-115)	96 (86-102) $p > 0,9999$	87 (77-94) $p = 0,7972$	70 (64-73) $p = 0,0086$	47 (44-50) $p < 0,0001$	28 (26-33) $p < 0,0001$	108 (98-114)	103 (93-111) $p > 0,9999$	99 (89-107) $p > 0,9999$	89 (78-96) $p = 0,4348$	75 (65-82) $p = 0,0037$	53 (46-58) $p < 0,0001$
INR	1,0 (0,9-1,0)	1,1 (1,0-1,1) $p > 0,9999$	1,1 (1,0-1,2) $p = 0,8175$	1,3 (1,2-1,3) $p = 0,0137$	1,6 (1,5-1,7) $p < 0,0001$	2,5 (2,2-2,7) $p < 0,0001$	1,0 (0,9-1,0)	1,0 (0,9-1,1) $p > 0,9999$	1,0 (1,0-1,1) $p > 0,9999$	1,1 (1,0-1,2) $p = 0,6543$	1,2 (1,1-1,3) $p = 0,0069$	1,5 (1,4-1,7) $p < 0,0001$
aPTT [s]	27 (26-30)	37 (34-39) $p > 0,9999$	44 (39-47) $p = 0,2166$	53 (49-59) $p = 0,0021$	68 (64-73) $p < 0,0001$	90 (86-99) $p < 0,0001$	28 (27-29)	29 (28-30) $p > 0,9999$	30 (29-30) $p > 0,9999$	32 (30-34) $p = 0,0905$	36 (33-37) $p = 0,0010$	40 (39-44) $p < 0,0001$
TZ [s]	19 (17-19)	137 (115-150) $p = 0,1493$	150 (150-150) $p < 0,0001$	150 (150-150) $p < 0,0001$	150 (150-150) $p < 0,0001$	150 (150-150) $p < 0,0001$	19 (18-19)	19 (17-19) $p > 0,9999$	19 (17-20) $p > 0,9999$	19 (18-19) $p > 0,9999$	19 (18-20) $p > 0,9999$	20 (18-20) $p > 0,9999$
Fibrinogen [mg dl <sup>-1</sup> ]	279 (258-405)	287 (254-427) $p > 0,9999$	264 (258-406) $p > 0,9999$	259 (250-391) $p > 0,9999$	240 (224-318) $p > 0,9999$	30 (30-130) $p = 0,0002$	271 (247-402)	260 (247-402) $p > 0,9999$	252 (239-406) $p > 0,9999$	269 (246-404) $p > 0,9999$	262 (244-409) $p > 0,9999$	262 (221-410) $p > 0,9999$
Anti-IIa/ Anti-Xa Aktivität [ng ml <sup>-1</sup> ]	0	72,2 (59,6-82,8) $p > 0,9999$	136,3 (124,8-143,7) $p = 0,1567$	262,1 (240,2-280,7) $p = 0,0011$	517,2 (448,8-583,8) $p < 0,0001$	1097 (856,3-1128) $p < 0,0001$	0	22,8 (18,8-28,8) $p > 0,9999$	36,1 (35,4-38,9) $p = 0,1717$	71,8 (67,6-75,8) $p = 0,0020$	142,0 (136,0-148,5) $p < 0,0001$	288,1 (282,5-304,7) $p < 0,0001$

INR: International Normalized Ratio, aPTT: aktivierte partielle Thrombinzeit, TZ: Thrombinzeit

### 3.1.4 Viskoelastometrische Auswertung

#### 3.1.4.1 EX-test

In K0 zeigte sich in beiden DOAK-Gruppen eine normwertige CT<sub>EX-test</sub> von medianen 46 s (45-49 s) bei Dabigatran beziehungsweise von 47 s (41-50 s) bei Edoxaban. Sowohl in der mit Dabigatran (186 s,  $p = 0,0018$ ) als auch mit Edoxaban (69 s,  $p = 0,0076$ ) inkubierten Test-Probe K3 (125,00 ng/ml) zeigte sich erstmals eine signifikante Verlängerung im Vergleich zur Ausgangs-Probe K0. Insgesamt stellt sich bei den mit Dabigatran inkubierten Proben eine stärkere Verlängerung der CT<sub>EX-test</sub>

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

(K5 = 445 s) als bei den Edoxaban-Proben (K5 = 104 s) ein. Die Gerinnselfestigkeit 5 Minuten nach CT (A05) verkürzte sich weder bei den zugefügten Dabigatran-, noch bei den Edoxaban-Konzentrationen ( $p > 0,9999$ ). Gleiches zeigte sich bei der MCF. Auch hier war im EX-test bei keiner Konzentration eine signifikante Abweichung zur Ausgangskonzentration K0 festzustellen.

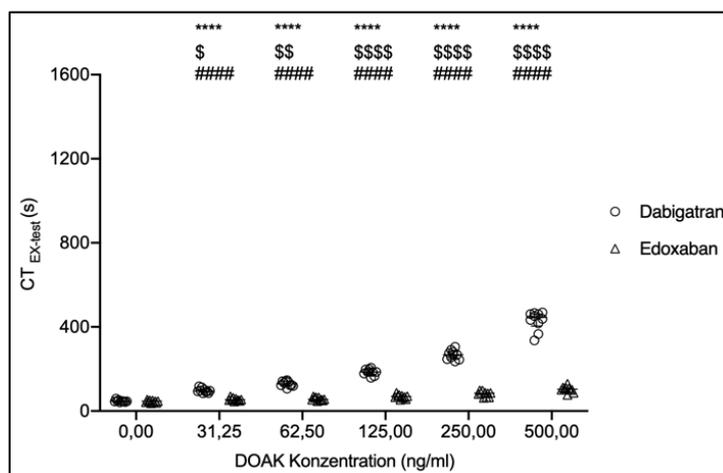


Abbildung 3 in vitro Dosis-Wirkungskurve der thrombelastometrischen Variable  $CT_{EX-test}$  (s) und aufsteigende Konzentration von Dabigatran und Edoxaban (ng/ml). Clotting Time (CT) in Sekunden (s), Dabigatran (Kreis-Symbol), Edoxaban (Dreieck-Symbol). \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ , \*\*\*\* $p < 0,0001$ . \* im Vergleich zur Ausgangskonzentration (Dabigatran), \$ im Vergleich zur Ausgangskonzentration (Edoxaban), # im Vergleich zwischen Dabigatran und Edoxaban der gleichen Konzentration.

### 3.1.4.2 IN-test

Im IN-test zeigte die Ausgangs-Konzentration K0 beider Gruppen eine mediane CT von 152 s (145-159 s) bei Dabigatran beziehungsweise 150 s (145-154 s) bei Edoxaban. Ab einer zugefügten Konzentration von 125,00 ng/ml Dabigatran (K3) verlängerte sich die  $CT_{IN-test}$  auf mediane 340 s (314-349 s) signifikant ( $p = 0,0021$ ) im Vergleich zur K0. Gleiches zeigte sich bei der mit Edoxaban inkubierten Probe K3 mit 196 s (188-204 s) und einer Signifikanz von  $p = 0,0063$ . Bei der mit Dabigatran inkubierten K5-Probe (500,00 ng/ml) verlängerte sich die CT bis auf mediane 625 s (593-644 s,  $p < 0,0001$ ). Die Edoxaban-Probe K5 immerhin auf ebenfalls hoch signifikante 271 s (263-277 s,  $p < 0,0001$ ).

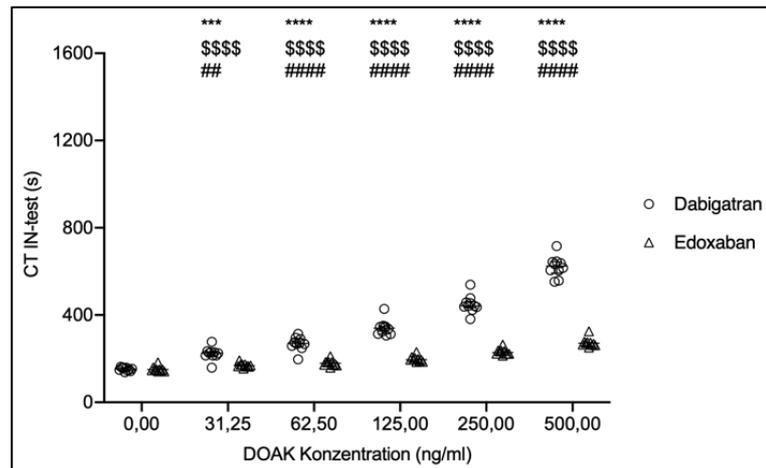


Abbildung 4 in vitro Dosis-Wirkungskurve der thrombelastometrischen Variable CT<sub>IN-test</sub> (s) und aufsteigende Konzentration von Dabigatran und Edoxaban (ng/ml). Clotting Time (CT) in Sekunden (s), Dabigatran (Kreis-Symbol), Edoxaban (Dreieck-Symbol). \*p < 0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\*p < 0,001, \*\*\*\*p < 0,0001. \* im Vergleich zur Ausgangskonzentration (Dabigatran), \$ im Vergleich zur Ausgangskonzentration (Edoxaban), # im Vergleich zwischen Dabigatran und Edoxaban der gleichen Konzentration.

### 3.1.4.3 ECA-test

Die Clotting Time im ECA-test nahm mit steigender Konzentration von Dabigatran deutlich zu. Von medianen 69 s (65-74 s) für die K0-Proben auf 1340 s (1316-1456 s) für K5. Bereits ab K3 (125,00 ng/ml) bestand eine Verlängerung der CT<sub>ECA-test</sub> auf 498 s. Für K3 (p = 0,0018), K4 (p < 0,0001) und K5 (p < 0,0001) war diese Verlängerung im Vergleich zur Ausgangs-Konzentration signifikant. Bei den Edoxaban-Proben stellte sich für keine der inkubierten Konzentration eine signifikante Verlängerung der CT<sub>ECA-test</sub> im Vergleich zur K0 ein. In der Spearman-Korrelation zeigte sich in den mit Dabigatran inkubierten Proben eine sehr gute Korrelation zwischen der CT<sub>ECA-test</sub> und der gemessenen Plasmakonzentration der Anti-IIa Aktivität (ng/ml): r = 0,9720; p < 0,0001).

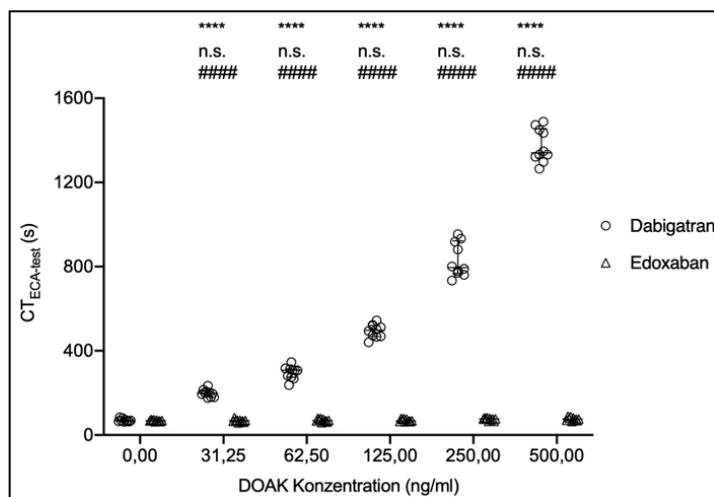


Abbildung 5 in vitro Dosis-Wirkungskurve der thrombelastometrischen Variable  $CT_{ECA-test}$  (s) und aufsteigende Konzentration von Dabigatran und Edoxaban (ng/ml). Clotting Time (CT) in Sekunden (s), Dabigatran (Kreis-Symbol), Edoxaban (Dreieck-Symbol). \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ , \*\*\*\* $p < 0,0001$ . \* im Vergleich zur Ausgangskonzentration (Dabigatran), \$ im Vergleich zur Ausgangskonzentration (Edoxaban), # im Vergleich zwischen Dabigatran und Edoxaban der gleichen Konzentration.

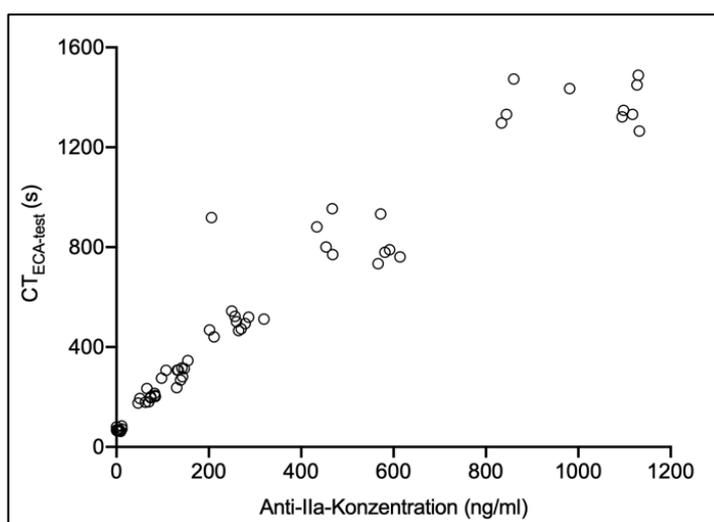


Abbildung 6 Spearman-Korrelation zwischen  $CT_{ECA-test}$  (s) und der Anti-IIa Plasmakonzentration von Dabigatran (ng/ml).

#### 3.1.4.4 RVV-test

Im RVV-test zeigte die Ausgangs-Konzentration K0 eine mediane CT von 57 s (56-59 s) bei Dabigatran beziehungsweise 56 s (53-65 s) bei Edoxaban.

In den mit Dabigatran inkubierten Proben zeigten zum Messzeitpunkt K3 (230 s [192-240 s],  $p = 0,0019$ ), K4 (288 s [280-315 s]) und K5 (449 s [387-477 s]) hoch signifikant ( $p < 0,0001$ ) verlängerte Werte gegenüber der Ausgangs-Probe K0. Eine signifikante Verlängerung der  $CT_{RVV-test}$  ab K3 gegenüber K0 war ebenfalls in den Edoxaban-

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

Proben festzustellen. Auch wenn die Zeiten im Median nicht so hohe Absolutwerte (K3 176 s, K4 215 s, K5 274s) erreichten, wie in der Dabigatran-Gruppe. Die  $CT_{RVV\text{-test}}$  bei den Edoxaban-Werten korrelierte sehr gut mit den analog gemessenen Plasmakonzentrationen der Anti-Xa Aktivität ( $r = 0,9403$ ;  $p < 0,0001$ ).

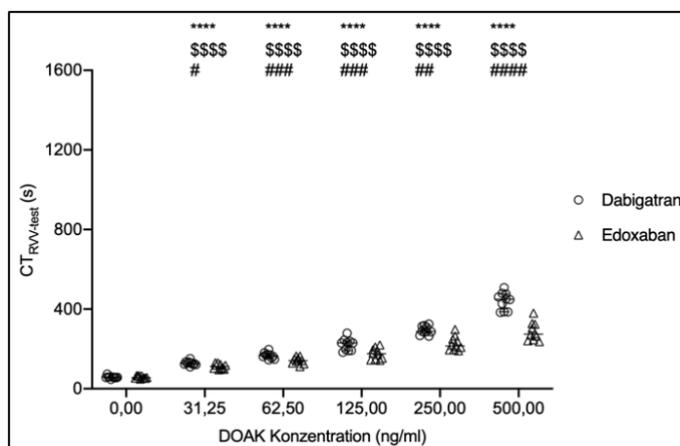


Abbildung 7 in vitro Dosis-Wirkungskurve der thrombelastometrischen Variable  $CT_{RVV\text{-test}}$  (s) und aufsteigende Konzentration von Dabigatran und Edoxaban (ng/ml). Clotting Time (CT) in Sekunden (s), Dabigatran (Kreis-Symbol), Edoxaban (Dreieck-Symbol). \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ , \*\*\*\* $p < 0,0001$ . \* im Vergleich zur Ausgangskonzentration (Dabigatran), \$ im Vergleich zur Ausgangskonzentration (Edoxaban), # im Vergleich zwischen Dabigatran und Edoxaban der gleichen Konzentration.

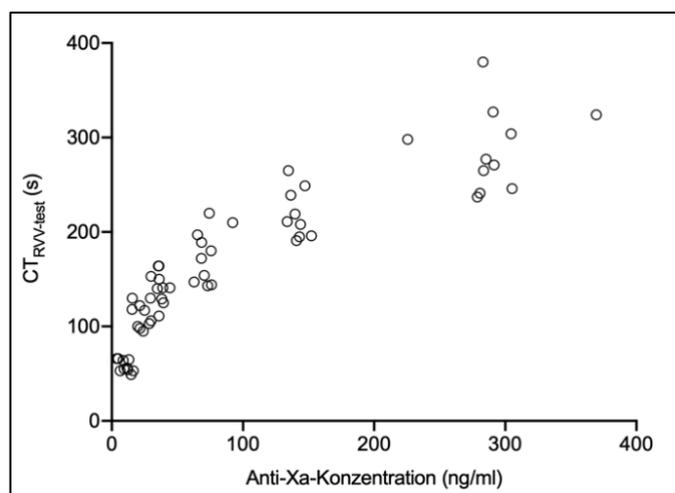


Abbildung 8 Spearman-Korrelation zwischen  $CT_{RVV\text{-test}}$  (s) und der Anti-Xa Plasmakonzentration von Rivaroxaban, Apixaban und Edoxaban (ng/ml).

### 3.1.4.5 TPA-test

Die CT im TPA-test zeigte Normalwerte von 37 s (33-39 s) beziehungsweise 36 s (32-39 s) in den K0-Proben beider Gruppen. Ab der zugeführten Konzentration von 125,00 ng/ml (K3) stellte sich in beiden DOAK Gruppen eine signifikante Verlängerung auf

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

189 s ( $p = 0,0013$ ) bei Dabigatran und 64 s ( $p = 0,0038$ ) bei Edoxaban ein. Die Lysis onset time (LOT) als gemessene Zeit von der CT bis zu einem Verlust von 15% der maximalen Festigkeit zeigte bereits ab K3 (125 ng/ml Dabigatran) eine signifikante Verkürzung auf 50 s (38-53 s,  $p = 0,0473$ ) im Vergleich zur Ausgangs-Probe K0 mit 70 s (63-80 s). In der Edoxaban-Gruppe konnte eine signifikante Veränderung lediglich bei K5 mit 53 s (47-68 s,  $p = 0,0243$ ) im Vergleich zur K0 (74 s) festgestellt werden. Die Lyse Zeit (LT) als Wert von der CT bis zu einem Verlust von 50% der maximalen Festigkeit, war lediglich bei der mit Dabigatran inkubierten Proben K4 im Vergleich zur K0 signifikant verändert: 125 s,  $p = 0,0129$ . In der Edoxaban-Gruppe war bezüglich der  $LT_{TPA\text{-test}}$  bei keiner der inkubierten Konzentrationen im Vergleich zur Ausgangs-Probe K0 eine signifikante Veränderung festzustellen (K1-K4:  $p > 0,9999$ ; K5:  $p = 0,1225$ ). Die maximale Lyse ( $ML_{TPA\text{-test}}$ ) während der Laufzeit (4500 s), beschrieben als Differenz zwischen MCF und der niedrigsten Amplitude, veränderte sich nur in den mit Dabigatran inkubierten Proben ab 250,00 ng/ml signifikant während in den Edoxaban-Proben keine signifikante Veränderung festzustellen war.

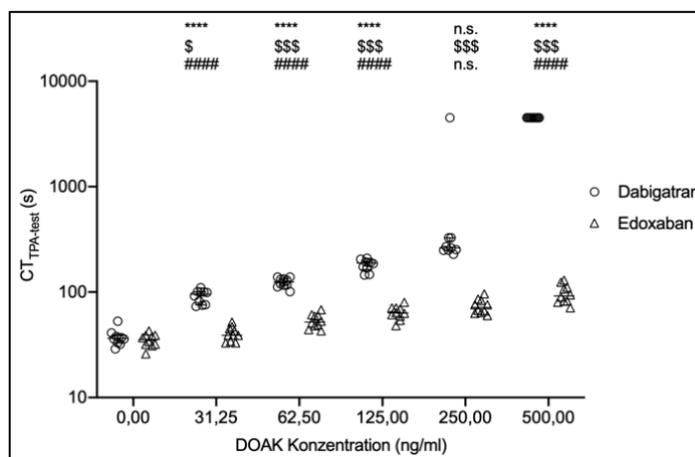


Abbildung 9 in vitro Dosis-Wirkungskurve der thrombelastometrischen Variable  $CT_{TPA\text{-test}}$  (s) und aufsteigende Konzentration von Dabigatran und Edoxaban (ng/ml). Clotting Time (CT) in Sekunden (s), Dabigatran (Kreis-Symbol), Edoxaban (Dreieck-Symbol). \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ , \*\*\*\* $p < 0,0001$ . \* im Vergleich zur Ausgangskonzentration (Dabigatran), \$ im Vergleich zur Ausgangskonzentration (Edoxaban), # im Vergleich zwischen Dabigatran und Edoxaban der gleichen Konzentration.

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

Tabelle 6 Viskoelastometrische Auswertung

	Dabigatran (ng/ml)						Edoxaban (ng/ml)					
	K0 0,00	K1 31,25	K2 62,50	K3 125,00	K4 250,00	K5 500,00	K0 0,00	K1 31,25	K2 62,50	K3 125,00	K4 250,00	K5 500,00
<b>CT<sub>EX</sub>-test [s]</b>	46 (45-49)	95 (90-104) p>0,9999	129 (121-142) p=0,1683	186 (175-198) p=0,0018	269 (246-284) p<0,0001	445 (404-462) p<0,0001	47 (41-50)	54 (51-60) p>0,9999	56 (52-65) p=0,7962	69 (61-73) p=0,0076	85 (66-91) p<0,0001	104 (97-111) p<0,0001
<b>A05<sub>EX</sub>-test [mm]</b>	48 (44-52)	48 (48-52) p>0,9999	47 (46-52) p>0,9999	49 (48-51) p>0,9999	51 (49-53) p>0,9999	43 (35-46) p=0,5001	47 (45-52)	49 (46-53) p>0,9999	49 (46-53) p>0,9999	49 (46-55) p>0,9999	50 (48-53) p>0,9999	50 (48-53) p>0,9999
<b>MCF<sub>EX</sub>-test [s]</b>	59 (54-62)	60 (57-63) p>0,9999	59 (56-62) p>0,9999	61 (58-62) p>0,9999	62 (59-63) p>0,9999	63 (59-65) p=0,4695	59 (54-62)	61 (56-63) p>0,9999	61 (56-63) p>0,9999	60 (56-64) p>0,9999	62 (58-63) p>0,9999	61 (58-63) p>0,9999
<b>CT<sub>IN</sub>-test [s]</b>	152 (145-159)	226 (215-231) p>0,9999	270 (257-292) p=0,2629	340 (314-349) p=0,0021	442 (434-463) p<0,0001	625 (593-644) p<0,0001	150 (145-154)	168 (164-174) p>0,9999	180 (171-185) p=0,5977	196 (188-204) p=0,0063	228 (222-237) p<0,0001	271 (263-277) p<0,0001
<b>CT<sub>TPA</sub>-test [s]</b>	37 (33-39)	96 (76-100) p>0,9999	125 (115-135) p=0,1428	189 (164-196) p=0,0013	263 (250-328) p<0,0001	4500 (4500-4500) p<0,0001	36 (32-39)	39 (34-46) p>0,9999	52 (47-60) p=0,2200	64 (58-71) p=0,0038	72 (64-84) p<0,0001	92 (82-114) p<0,0001
<b>LT<sub>TPA</sub>-test [s]</b>	203 (171-279)	213 (171-251) p>0,9999	156 (130-216) p>0,9999	157 (120-182) p=0,6801	125 (0-138) p=0,0129	4500 (4500-4500) p<0,0001	216 (179-259)	196 (169-228) p>0,9999	196 (168-226) p>0,9999	180 (152-217) p>0,9999	181 (144-219) p>0,9999	158 (143-200) p=0,1225
<b>LOT<sub>TPA</sub>-test [s]</b>	70 (63-80)	59 (50-67) p>0,9999	48 (42-56) p=0,1377	50 (38-53) p=0,0473	43 (10-51) p=0,0081	4500 (4500-4500) p<0,0001	74 (65-83)	69 (61-73) p>0,9999	67 (60-71) p>0,9999	60 (56-71) p=0,4798	61 (53-72) p=0,4798	53 (47-68) p=0,0243
<b>ML<sub>TPA</sub>-test [%]</b>	95 (94-96)	95 (93-95) p>0,9999	93 (91-94) p>0,9999	91 (90-93) p=0,3534	0 (0-84) p<0,0001	0 (0-0) p<0,0001	95 (94-96)	95 (94-96) p>0,9999	95 (94-95) p>0,9999	94 (93-95) p>0,9999	94 (92-95) p>0,9999	93 (90-95) p=0,2588
<b>CT<sub>RVV</sub>-test [s]</b>	57 (56-59)	127 (122-134) p>0,9999	166 (153-174) p=0,1510	230 (192-240) p=0,0019	288 (280-315) p<0,0001	449 (387-477) p<0,0001	56 (53-65)	112 (100-124) p>0,9999	141 (128-156) p=0,1300	176 (146-200) p=0,0019	215 (196-253) p<0,0001	274 (245-325) p<0,0001
<b>CT<sub>ECA</sub>-test [s]</b>	69 (65-74)	199 (181-208) p>0,9999	308 (274-315) p=0,1566	498 (468-521) p=0,0018	796 (768-923) p<0,0001	1340 (1316-1456) p<0,0001	69 (66-72)	68 (63-71) p>0,9999	69 (65-77) p>0,9999	68 (65-77) p>0,9999	77 (71-80) p=0,3202	76 (70-84) p=0,3850

CT: Clotting time, A05: Gerinnselfestigkeit 5 Minuten nach CT, MCF: Maximale Gerinnselfestigkeit, LT: Lysis Time, LOT: Lysis onset Time, ML: Maximale Lyse,

## 3.2 Ex vivo Studienteil

### 3.2.1 Demographische und klinische Daten

In den Studienteil der DOAK-Detektion wurden im Zeitraum von November 2018 bis April 2019 insgesamt 70 Patienten und 10 Probanden eingeschlossen. Die Patientenanzahl teilte sich folgendermaßen auf: Dabigatran n = 10, Rivaroxaban n = 10, Apixaban n = 10, Edoxaban n = 10, Phenprocoumon n = 10, Niedermolekulares Heparin n = 10, Unfraktioniertes Heparin n = 10 [83]. Tabelle 7 fasst die demographischen und klinischen Daten, deren statistische Maßzahlen, Median, 25%- und 75%-Quartil zusammen.

Tabelle 7 Probanden- und Patientencharakteristika

	Probanden	Patienten
n	10	70
Geschlecht; w/m (%)	6/4 (60/40)	26/44 (38/62)
Alter (Jahre)	61 (59-63)	76 (63-82)
Körpergröße (cm)	167 (160-175)	172 (168-180)
Gewicht (kg)	78 (69,4-85,3)	76,8 (67-89,1)
BMI (kg m <sup>-2</sup> )	26,7 (24,8-30,2)	25,0 (23,3-28,1)
RR Systole (mmHg)	138 (120-141)	129 (110-141)
RR Diastole (mmHg)	81 (69-93)	70 (62-80)
Herzfrequenz (min <sup>-1</sup> )	72 (63-82)	77 (69-89)
SpO <sub>2</sub> (%)	97 (94-98)	96 (93-100)
ASA Status (%)		
1	2 (20)	0 (0)
2	8 (80)	6 (8,6)
3	0	64 (91,4)
Diabetes		
ja	0	19 (27)
nein	10 (100)	51 (73)
Kreatinin (mg dl <sup>-1</sup> )	0,9 (0,78-0,95)	1,15 (0,97-1,43)
GFR (ml min <sup>-1</sup> )	96 (93-106)	74 (48-87)
Thrombozyten (10 <sup>9</sup> L <sup>-1</sup> )	262 (210-289)	233 (170-288)
Hb (mg dl <sup>-1</sup> )	14,3 (13,7-15,2)	11,8 (9,3-13,5)
Hämatokrit (l l <sup>-1</sup> )	0,41 (0,39-0,43)	0,36 (0,29-0,41)
Fibrinogen (mg dl <sup>-1</sup> )	367 (325-411)	422 (345-542)

BMI: Body-Mass-Index, RR: Blutdruck nach Riva-Rocci, SpO<sub>2</sub>: Sauerstoffsättigung in der Pulsoxymetrie, ASA: Risikoklassifikation der American Society of Anesthesiologists, GFR: glomeruläre Filtrationsrate, Hb: Hämoglobin

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

---

### **3.2.2 Probanden- und Patientengruppe**

Die 10 Probanden konnten in die ASA-Klassen 1 und 2 unterteilt werden. Von den 70 Patienten konnte der Großteil (91,4 %) der ASA-Klasse 3 und nur ein geringer Anteil der Klasse 2 zugeordnet werden. Die weiteren Probanden- und Patientencharakteristika sowie demographische und klinische Daten können den Tabellen 7 und 8 entnommen werden.

Die letzte Medikamenteneinnahme vor der Blutentnahme lag bei Patienten die mit Dabigatran behandelt wurden im Median bei 3,75 Stunden (1,00 – 12,00 Std.). Die letzte Rivaroxabaneinnahme lag bei 5,00 Stunden (1,00 – 12,00 Std.), die Apixabaneinnahme bei 6,00 Stunden (1,38 – 12,00 Std.) und die letzte Edoxabaneinnahme bei 6,75 Stunden (1,75 – 14,00 Std.) Bei der zusammengefassten Patientengruppe unter Faktor-Xa-Inhibitoren-Therapie lag die letzte Einnahme bei 6,00 Stunden (1,38 – 12,00 Std.) vor Blutentnahme. Niedermolekulares Heparin wurde im Median 3,25 Stunden (0,5-13,5 Std.) vor der Blutentnahme subkutan appliziert.

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

Tabelle 8 Demographische und klinische Parameter der einzelnen Patientengruppen

	Kontrolle	Rivaroxaban	Apixaban	Edoxaban	Dabigatran	Phenprocoumon	NMH	UFH
Geschlecht w/m (%)	6/4 (60/40)	5/5 (50/50)	8/2 (80/20)	9/1 (90/10)	8/2 (80/20)	6/4 (60/40)	6/4 (60/40)	3/7 (30/70)
Alter (Jahre)	61 (59-63)	71 (54-81)	82 (79-87)	77 (73-83)	72 (58-79)	82 (45-86)	70 (42-79)	74 (63-82)
BMI (kg m <sup>-2</sup> )	26,7 (24,8-30,2)	23,4 (22,3-30,0)	23,9 (23,2-26,0)	27,0 (24,0-29,2)	25,5 (23,7-28,8)	26,4 (23,8-30,1)	24,3 (20,3-28,1)	26,6 (22,0-27,9)
ASA Status								
1	2 (20)	0	0	0	0	0	0	0
2	8 (80)	2 (20)	0	0	3 (30)	0	1 (10)	0
3	0	8 (80)	10 (100)	10 (100)	7 (70)	10 (100)	9 (90)	9 (90)
4	0	0	0	0	0	0	0	1 (10)
Diabetes								
ja	0	2 (20)	2 (20)	2 (20)	2 (20)	4 (40)	1 (10)	3 (30)
nein	10 (100)	8 (80)	8 (80)	8 (80)	8 (80)	6 (60)	9 (90)	6 (70)
Kreatinin mg dl <sup>-1</sup>	0,9 (0,78-0,95)	1,0 (0,89-1,49)	1,2 (1,2-1,4)	1,2 (1,1-1,4)	1,1 (0,9-1,3)	1,5 (1,1-2,6)	1,1 (0,88-1,4)	1,0 (0,6-2,5)
GFR (ml min <sup>-1</sup> )	96 (93-106)	79 (65-99)	56 (48-82)	71 (52-81)	74 (64-104)	61 (35-84)	92 (70-112)	73 (23-86)
Thrombozyten (10 <sup>9</sup> L <sup>-1</sup> )	262 (210-289)	214 (141-265)	247 (159-294)	220 (180-271)	229 (184-293)	239 (170-266)	282 (211-330)	227 (156-350)
Hb (mg dl <sup>-1</sup> )	14,3 (13,7-15,2)	12,5 (10,0-1,6)	11,8 (9,9-13,6)	13,1 (11,9-14,1)	13,6 (11,4-15,1)	12,2 (10,7-15,3)	1,0 (9,4-12,6)	8,3 (7,4-9,1)
Hämatokrit (l l <sup>-1</sup> )	0,41 (0,39-0,43)	0,38 (0,31-0,43)	0,36 (0,3-0,41)	0,38 (0,37-0,41)	0,40 (0,34-0,44)	0,36 (0,32-0,45)	0,31 (0,28-0,35)	0,26 (0,22-0,28)
Fibrinogen (mg dl <sup>-1</sup> )	367 (325-411)	413 (359-447)	530 (366-594)	481 (310-570)	365 (298-425)	420 (390-500)	429 (341-597)	414 (319-509)

BMI: Body-Mass-Index, ASA: Risikoklassifikation der American Society of Anesthesiologists, GFR: glomeruläre Filtrationsrate, Hb: Hämoglobin [83].

### 3.2.3 Plasmatische Gerinnung

Die Ergebnisse der hämostaseologischen Globaltests sind in Tabelle 9 zusammengefasst. Im Vergleich zur Kontrollgruppe war bei Dabigatran und unfractioniertem Heparin die aPTT signifikant verlängert (Kontrolle: Median 26 [24-28] Sekunden; Dabigatran: 43 [39-50] Sekunden; UFH: 51 [48-62] Sekunden; je  $p < 0,0001$ ). Eine zusätzliche signifikante Verlängerung in der aPTT zeigte sich beim Vergleich von unfractioniertem Heparin mit den Faktor-Xa-Inhibitoren ( $p < 0,0001$ ), mit Phenprocoumon ( $p = 0,0378$ ), mit NMH ( $p = 0,0002$ ) sowie bei Dabigatran im Vergleich zu den FXa-Inhibitoren ( $p = 0,0017$ ) und zu NMH ( $p = 0,0043$ ). Phenprocoumon zeigte den einzig statistisch signifikanten INR-Anstieg im Vergleich zur Kontrollgruppe (Median: 1,9 [1,8-2,3] im Vergleich zu 1,0 [1,0-1,0];  $p < 0,0001$ ). Ebenso war nur in der Phenprocoumon-Gruppe im Vergleich zu allen anderen Substanzgruppen ein

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

signifikanter INR-Anstieg festzustellen. Im Vergleich zur Kontrollgruppe (Median: 17 [17-18] Sekunden) zeigte sich die Thrombinzeit (TZ) bei Dabigatran mit medianen 144 (114-150) Sekunden ( $p = 0,0003$ ) und unfraktioniertem Heparin mit im Median 48 (38-123) Sekunden ( $p = 0,0004$ ) signifikant verlängert. Trotz der zeitlichen Differenz zwischen Dabigatran und UFH konnte keine statistische Signifikanz erreicht werden. Allerdings zeigte sich eine signifikante TZ-Verlängerung sowohl bei Dabigatran als auch bei UFH im Vergleich zu den anderen Substanzgruppen (FXa-Inhibitoren, Phenprocoumon und NMH).

Tabelle 9 Hämostaseologische Globaltests in vivo

Labortest	Kontrolle (n=10)	Dabigatran (n=10)	Rivaroxaban (n=10)	Apixaban (n=10)	Edoxaban (n=10)	Phenprocoumon (n=10)	NMH (n=10)	UFH (n=10)
INR	1,0 (1,0-1,0)	1,2 (1,2-1,4) $p=0,0947$	1,3 (1,2-1,5) $p=0,0541$	1,1 (0,9-1,2) $p>0,9999$	1,1 (1,1-1,3) $p>0,9999$	1,9 (1,8-2,3) $p<0,0001$	1,0 (0,9-1,0) $p>0,9999$	1,1 (1,1-1,2) $p>0,9999$
aPTT [s]	26 (24-28)	43 (39-50) $p<0,0001$	32 (29-35) $p=0,3197$	27 (25-31) $p>0,9999$	28 (27-30) $p>0,9999$	31 (29-35) $p=0,3714$	29 (24-33) $p>0,9999$	51 (48-62) $p<0,0001$
TZ [s]	17 (17-18)	144 (114-150) $p=0,0005$	17 (16-18) $p>0,9999$	17 (17-18) $p>0,9999$	17 (16-18) $p>0,9999$	18 (17-18) $p>0,9999$	17 (16-20) $p>0,9999$	48 (38-123) $p=0,0074$

INR: International Normalized Ratio, aPTT: aktivierte partielle Thrombinzeit, TZ: Thrombinzeit

### 3.2.4 Viskoelastometrische Auswertung

#### 3.2.4.1 EX-test

In der folgenden Tabelle 10 werden die viskoelastometrischen Daten im EX-test angegeben. Die mediane Clotting Time (CT) der Kontrollgruppe lag im EX-test bei 44 Sekunden (38-47 s). Im Vergleich zur Kontrollgruppe, zu niedermolekularem Heparin und unfraktioniertem Heparin war die  $CT_{EX-test}$  von Dabigatran mit im Median 155 Sekunden (96-206 s) signifikant verlängert ( $p < 0,0001$ ). Fasst man die Daten der drei Faktor-Xa-Inhibitoren zusammen, ergibt sich eine mediane CT von 84 Sekunden (57-105 s), die zur Kontrollgruppe signifikant verlängert ( $p = 0,0003$ ), jedoch kürzer als die von Dabigatran (155 s) war. Obwohl ein gewisser zeitlicher Unterschied zwischen Medikamenteneinnahme und Blutentnahme zwischen den Gruppenbestand, war dieser nicht signifikant ( $p = 0,2251$ ). Phenprocoumon stellte mit medianen 93 Sekunden (65-106s) zusätzlich eine signifikante Verlängerung der  $CT_{EX-test}$  im Vergleich zur Kontrollgruppe dar ( $p = 0,0011$ ). Apixaban unterschied sich von den

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

beiden anderen Faktor Xa-Inhibitoren Rivaroxaban und Edoxaban in seiner kürzeren CT<sub>EX-test</sub> mit medianen 52 Sekunden (47-78s) und lag somit nicht signifikant verändert von den Werten der Kontrollgruppe ( $p > 0,9999$ ). Bei den niedermolekularen (50 Sekunden [45-56 s];  $p > 0,9999$ ) und unfraktionierten (51 Sekunden [43-66 s];  $p > 0,9999$ ) Heparinen zeigte sich ebenfalls keine signifikante Veränderung in der CT<sub>EX-test</sub> [83].

Die Gerinnselfestigkeit 5 Minuten und 10 Minuten nach CT (A5; A10) war im EX-test bei keiner der Substanzen im Vergleich zur Kontrollgruppe mit medianen 52 Millimetern (49-54 mm) und 59 Millimetern (58-61 mm) signifikant verändert.

Gleiches zeigte sich bei der maximalen Gerinnselfestigkeit (MCF). Auch hier war im EX-test bei keiner Gruppe eine signifikante Abweichung zur Kontrollgruppe mit 62 Millimetern (62-66 mm) festzustellen.

Tabelle 10 Viskoelastometrische Daten im EX-test

	Kontrolle (n=10)	Dabigatran (n=10)	Rivaroxaban (n=10)	Apixaban (n=10)	Edoxaban (n=10)	Phenprocoumon (n=10)	NMH (n=10)	UFH (n=10)
<b>CT<sub>EX-test</sub> [s]</b>	44 (38-47)	155 (96-206) $p < 0,0001$	102 (83-110) $p = 0,0002$	52 (47-78) $p > 0,9999$	92 (65-117) $p = 0,0016$	93 (65-106) $p = 0,0021$	50 (45-56) $p > 0,9999$	51 (43-66) $p > 0,9999$
<b>A05<sub>EX-test</sub> [mm]</b>	52 (49-54)	53 (49-58) $p > 0,9999$	54 (51-57) $p > 0,9999$	58 (51-61) $p > 0,9999$	56 (53-62) $p = 0,6178$	58 (54-62) $p = 0,2703$	57 (52-61) $p > 0,9999$	58 (54-64) $p = 0,2484$
<b>A10<sub>EX-test</sub> [mm]</b>	59 (58-61)	60 (58-65) $p > 0,9999$	62 (59-65) $p > 0,9999$	65 (60-69) $p > 0,9999$	64 (61-69) $p = 0,5650$	66 (63-68) $p = 0,1976$	65 (60-68) $p = 0,8635$	66 (61-70) $p = 0,2064$
<b>MCF<sub>EX-test</sub> [mm]</b>	62 (62-66)	64 (62-69) $p > 0,9999$	67 (63-68) $p > 0,9999$	69 (63-72) $p > 0,9999$	67 (64-72) $p > 0,9999$	69 (67-71) $p = 0,2397$	68 (64-72) $p = 0,7985$	69 (67-74) $p = 0,1990$

CT: Clotting time, A05, A10: Gerinnselfestigkeit 5 und 10 Minuten nach CT, MCF: Maximale Gerinnselfestigkeit.

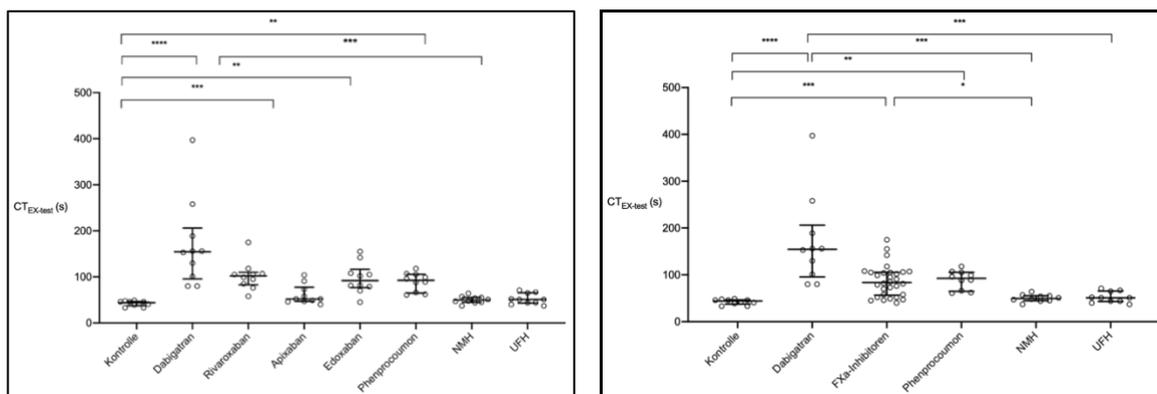


Abbildung 10 zeigt Medianwerte und 25%- und 75%-Quartil der Clotting Time (CT) in s im EX-test der Kontrollgruppe und der Antikoagulanzen-Gruppen. Signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe sind mit \* markiert. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$  [83]. NMH: niedermolekulares Heparin, UFH: unfractioniertes Heparin

### 3.2.4.2 IN-test

Im IN-test zeigte die Kontrollgruppe eine mediane CT von 142 Sekunden (135-148 s). Mit 288 Sekunden (242-336 s) war die  $CT_{IN-test}$  in der Dabigatran Gruppe am längsten und mit einem p-Wert von  $< 0,0001$  deutlich signifikant. Ebenso zeigte Dabigatran im Vergleich zu den Faktor Xa-Inhibitoren ( $p = 0,0108$ ), Phenprocoumon ( $p = 0,0002$ ) und den NMH ( $p < 0,0001$ ) eine statistisch signifikante Verlängerung in  $CT_{IN-test}$ . Im Vergleich zur Kontrollgruppe stellte sich auch bei der Gruppe der Faktor Xa-Inhibitoren ( $p = 0,0026$ ; 183 Sekunden [168-203 s]) und bei unfractioniertem Heparin ( $p < 0,0001$ ; 225 Sekunden [198-276 s]) eine signifikante Verlängerung dar. Innerhalb der Faktor Xa-Inhibitoren zeigte Apixaban mit einer medianen  $CT_{IN-test}$  von 171 Sekunden (151-183 s) den kürzesten Wert und somit keine signifikante Veränderung ( $p > 0,9999$ ) zur Kontrollgruppe [83].

Auch im IN-Test zeigte sich bei der Gerinnselfestigkeit (A5 und A10) im Vergleich zur Kontrolle mit 49 Millimeter (47-52 mm) zu keiner der Substanzen eine signifikante Veränderung in der Millimeterzahl 5 und 10 Minuten nach Clotting Time. Ebenso war bei der  $MCF_{IN-test}$  wie schon im EX-test bei keiner der Substanzen eine signifikante Veränderung im Vergleich zur Kontrollgruppe (60 mm) festzustellen ( $p > 0,9999$ ). Tabelle 11 fasst die viskoelastometrischen Daten im IN-test zusammen.

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

Tabelle 11 Viskoelastometrische Daten im IN-test

	Kontrolle (n=10)	Dabigatran (n=10)	Rivaroxaban (n=10)	Apixaban (n=10)	Edoxaban (n=10)	Phenprocoumon (n=10)	NMH (n=10)	UFH (n=10)
<b>CT<sub>IN-test</sub> [s]</b>	142 (135-148)	288 (242-336) p<0.0001	200 (183-241) p=0.0021	171 (151-183) p>0.9999	184 (169-220) p=0.0372	162 (149-170) p>0.9999	148 (144-168) p>0.9999	225 (198-276) p<0.0001
<b>A5<sub>IN-test</sub> [mm]</b>	49 (47-52)	49 (47-57) p>0.9999	50 (46-54) p>0.9999	57 (48-59) p>0.9999	52 (48-60) p>0.9999	56 (51-58) p=0.8956	53 (49-58) p>0.9999	52 (47-61) p>0.9999
<b>A10<sub>IN-test</sub> [mm]</b>	57 (55-60)	57 (55-64) p>0.9999	58 (54-62) p>0.9999	64 (57-67) p>0.9999	59 (57-66) p>0.9999	63 (60-65) p=0.8332	61 (55-66) p>0.9999	60 (55-68) p>0.9999
<b>MCF<sub>IN-test</sub> [mm]</b>	60 (59-65)	61 (59-68) p>0.9999	63 (59-65) p>0.9999	67 (63-71) p=0.7435	63 (60-71) p>0.9999	67 (64-69) p=0.4456	66 (59-70) p>0.9999	66 (62-72) p>0.9999

CT: Clotting time, A05, A10: Gerinnselfestigkeit 5 und 10 Minuten nach CT, MCF: Maximale Gerinnselfestigkeit

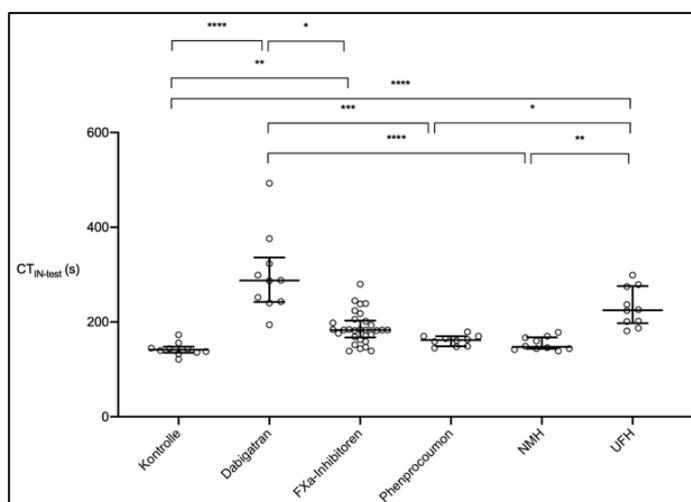


Abbildung 11 zeigt Medianwerte und 25%- und 75%-Quartil der Clotting Time (CT) in s im IN-test der Kontrollgruppe und der Antikoagulanzen-Gruppen. Signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe sind mit \* markiert. \*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001; \*\*\*\*p<0,0001 [83]. NMH: niedermolekulares Heparin, UFH: unfractioniertes Heparin

### 3.2.4.3 ECA-test

Im ECA-test lag die CT in der Kontrollgruppe im Median bei 73 Sekunden (70-78 s). Im Vergleich zeigte als einziges Antikoagulanz nur Dabigatran mit medianen 307 Sekunden (246-543 s) eine signifikante Verlängerung (p = 0,0002) in der CT<sub>ECA-test</sub>. Zudem stellten sich signifikante Unterschiede zwischen Dabigatran und den anderen

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

Substanzgruppen deutlich heraus (FXa-Inhibitoren:  $p = 0,0003$ ; Phenprocoumon:  $p = 0,0216$ ; NMH:  $p = 0,0027$ ; UFH:  $p < 0,0001$ ). Auch die Dabigatran-Plasmakonzentration, gemessen in der Anti-IIa Aktivität korrelierte stark mit der  $CT_{ECA-test}$  ( $r = 0,9970$ ;  $p < 0,0001$ ). Der optimale Cut-off Wert zur Detektion von Dabigatran wurde mit 128 Sekunden berechnet. Dieser Wert zeigte in der ROC-Analyse eine AUC von 1,00 (SE: 0,00) mit einer Sensitivität von 100% und einer Spezifität 100% [83].

$A5_{ECA-test}$  und  $A10_{ECA-test}$  war bei allen sieben Substanzklassen im Vergleich zur Kontrollgruppe (54 mm; 61 mm) nicht signifikant verändert ( $p > 0,9999$ ).

Die MCF bei der Kontrollgruppe war 67 Millimeter (65-72 mm) im ECA-test. Auch hier zeigte sich bei keiner der Gruppen eine signifikante Veränderung ( $p > 0,9999$ ). Tabelle 12 fasst die aufgeführten viskoelastometrischen Daten im ECA-test zusammen.

Tabelle 12 Viskoelastometrische Daten im ECA-test

	Kontrolle (n=10)	Dabigatran (n=10)	Rivaroxaban (n=10)	Apixaban (n=10)	Edoxaban (n=10)	Phenprocoumon (n=10)	NMH (n=10)	UFH (n=10)
<b>CT<sub>ECA-test</sub> [s]</b>	73 (70-78)	307 (246-543) $p=0,0002$	86 (79-94) $p=0,7412$	74 (64-79) $p>0,9999$	78 (71-85) $p>0,9999$	79 (73-83) $p>0,9999$	76 (73-80) $p>0,9999$	71 (62-78) $p>0,9999$
<b>A5<sub>ECA-test</sub> [mm]</b>	54 (50-59)	51 (46-57) $p>0,9999$	55 (52-58) $p>0,9999$	57 (52-61) $p>0,9999$	57 (52-61) $p>0,9999$	59 (56-60) $p>0,9999$	58 (54-58) $p>0,9999$	58 (54-64) $p>0,9999$
<b>A10<sub>ECA-test</sub> [mm]</b>	61 (59-66)	60 (58-65) $p>0,9999$	63 (60-65) $p>0,9999$	65 (61-69) $p>0,9999$	64 (60-68) $p>0,9999$	66 (64-68) $p>0,9999$	66 (63-68) $p>0,9999$	66 (61-71) $p>0,9999$
<b>MCF<sub>ECA-test</sub> [mm]</b>	67 (65-72)	68 (66-72) $p>0,9999$	68 (66-71) $p>0,9999$	70 (66-74) $p>0,9999$	69 (67-73) $p>0,9999$	72 (70-73) $p>0,9999$	71 (67-73) $p>0,9999$	72 (68-75) $p>0,9999$

CT: Clotting time, A05, A10: Gerinnselfestigkeit 5 und 10 Minuten nach CT, MCF: Maximale Gerinnselfestigkeit

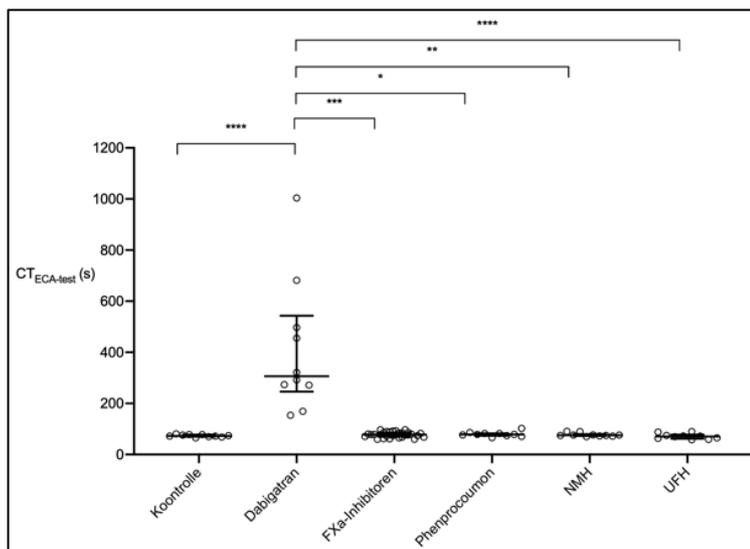


Abbildung 12 zeigt Medianwerte und 25%- und 75%-Quartil der Clotting Time (CT) in s im ECA-test der Kontrollgruppe und der Antikoagulanzen-Gruppen. Signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe sind mit \* markiert. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$  [83]. NMH: niedermolekulares Heparin, UFH: unfractioniertes Heparin

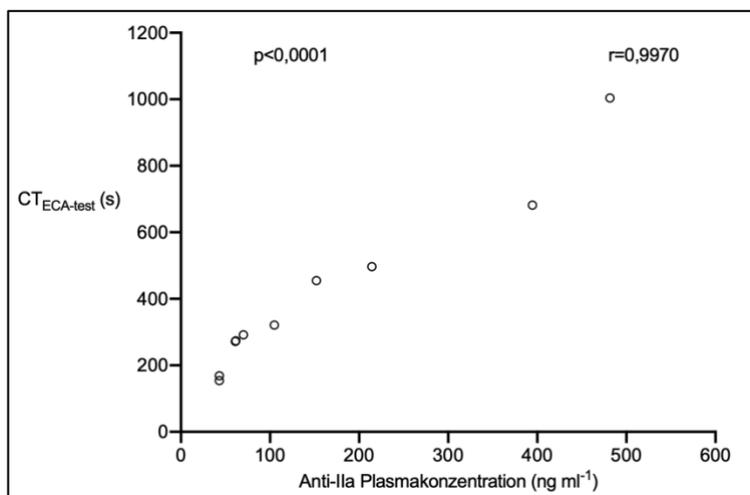


Abbildung 13 zeigt die Korrelation zwischen der Clotting Time (CT) in s im ECA-test und der Anti-IIa Plasmakonzentration ( $\text{ng ml}^{-1}$ ).

#### 3.2.4.4 RVV-test

Die mediane Clotting Time der Kontrollgruppe im RVV-test lag bei 63 Sekunden (58-73 s). Signifikant verlängert hierzu waren die Werte von Dabigatran ( $p = 0,0002$ ), die der Faktor-Xa-Inhibitoren ( $p < 0,0001$ ) und von unfractioniertem Heparin ( $p < 0,0001$ ) mit medianen Werten von 200 (148-247 s), 207 (159-288 s) und 289 (214-392 s) Sekunden. Die  $CT_{RVV\text{-test}}$  war zudem bei den Faktor-Xa-Inhibitoren im Vergleich mit Phenprocoumon ( $p = 0,0024$ ) und mit dem niedermolekularen Heparin ( $p = 0,0087$ )

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

signifikant verlängert. Gleiches zeigte sich bei unfraktioniertem Heparin im Vergleich zu Phenprocoumon ( $p = 0,0024$ ) und dem niedermolekularen Heparin ( $p = 0,0009$ ). Es stellte sich keine statistisch signifikante Veränderung in der  $CT_{RVV\text{-test}}$  zwischen den Faktor-Xa-Inhibitoren und UFH, oder zwischen Dabigatran und allen anderen behandelten Gruppen ein. Eine Tendenz zur  $CT_{RVV\text{-test}}$ -Verlängerung zeigte sich in der Phenprocoumon- (114 Sekunden, [98-120 s]) und der NMH-Gruppe (112 Sekunden, [86-123 s]), jedoch ohne statistisch signifikanten Effekt [83]. Tabelle 13 fasst die viskoelastometrischen Daten im RVV-test zusammen.

Tabelle 13 Viskoelastometrische Daten im RVV-test

	Kontrolle (n=10)	Dabigatran (n=10)	Rivaroxaban (n=10)	Apixaban (n=10)	Edoxaban (n=10)	Phenprocoumon (n=10)	NMH (n=10)	Heparin (n=10)
<b>CT<sub>RVV-test</sub> [s]</b>	63 (58-73)	200 (148-247) $p=0.0004$	294 (201-351) $p<0.0001$	172 (122-232) $p=0.0172$	203 (177-120) $p=0.0005$	114 (98-120) $p>0.9999$	112 (86-123) $p>0.9999$	289 (214-392) $p<0.0001$
<b>A05<sub>RVV-test</sub> [mm]</b>	52 (48-54)	49 (48-57) $p>0.9999$	54 (46-56) $p>0.9999$	55 (50-59) $p>0.9999$	53 (51-59) $p>0.9999$	57 (53-61) $p>0.9999$	54 (52-60) $p>0.9999$	49 (44-54) $p>0.9999$
<b>A10<sub>RVV-test</sub> [mm]</b>	60 (57-62)	58 (56-64) $p>0.9999$	61 (54-63) $p>0.9999$	63 (59-67) $p>0.9999$	61 (60-67) $p>0.9999$	64 (61-68) $p>0.9999$	63 (61-67) $p>0.9999$	58 (53-65) $p>0.9999$
<b>MCF<sub>RVV-test</sub> [mm]</b>	63 (60-67)	63 (60-67) $p>0.9999$	66 (59-68) $p>0.9999$	67 (65-71) $p>0.9999$	65 (63-72) $p>0.9999$	69 (66-71) $p=0.9791$	68 (65-71) $p>0.9999$	65 (59-70) $p>0.9999$

CT: Clotting time, A05, A10: Gerinnselfestigkeit 5 und 10 Minuten nach CT, MCF: Maximale Gerinnselfestigkeit

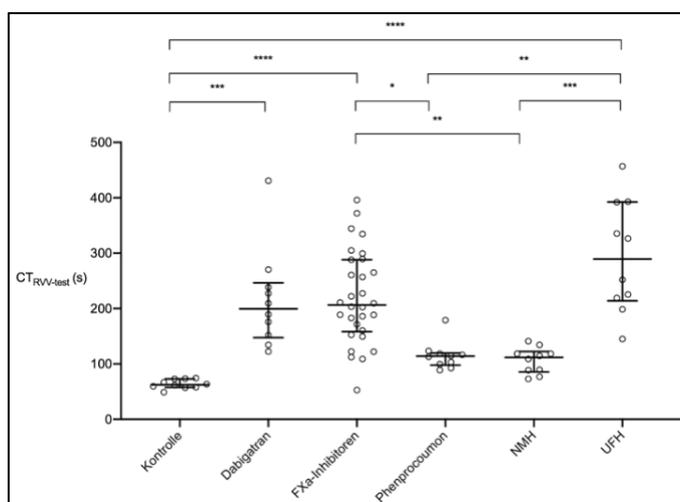


Abbildung 14 zeigt Medianwerte und 25%- und 75%-Quartil der Clotting Time (CT) in s im RVV-test der Kontrollgruppe und der Antikoagulanzen-Gruppen. Signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe sind mit \* markiert. \* $p<0,05$ ; \*\* $p<0,01$ ; \*\*\* $p<0,001$ ; \*\*\*\* $p<0,0001$  [83]. NMH: niedermolekulares Heparin, UFH: unfraktioniertes Heparin

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

---

Im RVV-Test waren jedoch bei keiner der Substanzen sowohl nach 5 (A05) als auch nach 10 (A10) Minuten die Gerinnselfestigkeit im Vergleich zur Kontrolle signifikant verändert ( $p > 0,9999$ ). Ebenso zeigte die  $MCF_{RVV\text{-test}}$  bei Dabigatran, Rivaroxaban, Apixaban, Edoxaban, Phenprocoumon sowie bei niedermolekularem und unfractioniertem Heparin im Vergleich zur Kontrollgruppe (63 mm; 60-67 mm) keine signifikante Veränderung ( $p > 0,9$ ).

Abbildung 12 zeigt die Korrelation zwischen  $CT_{RVV\text{-test}}$  und der Anti-Xa Plasmakonzentration, die in Form der spezifischen Anti-Xa Aktivität gemessen wurde (Rivaroxaban:  $r = 0,5636$ ,  $p = 0,0963$ ; Apixaban:  $r = 0,5714$ ,  $p = 0,2$ ). Eine statistische Signifikanz zeigte sich bei Edoxaban ( $r = 0,9394$ ;  $p = 0,0002$ ) und der zusammengefassten Substanzgruppe der FXa-Inhibitoren ( $r = 0,7998$ ;  $p < 0,0001$ ).

Abbildung 13 bildet die durchgeführten ROC-Analysen ab. Hierfür wurden die jeweiligen FXa-Inhibitoren sowie die zusammengefasste Gruppe der FXa-Inhibitoren der Kontrollgruppe, bestehend aus allen anderen sechs Antikoagulanzen-Gruppen und der Probandengruppe, gegenübergestellt. Für Apixaban ergab sich hierbei ein  $CT_{RVV\text{-test}}$  Cut-off Wert von 120 Sekunden mit einer zugehörigen AUC von 0,629 (SE: 0,089), einer Sensitivität von 90% und Spezifität von 52%. Für Edoxaban wurde ein  $CT_{RVV\text{-test}}$  Cut-off Wert von 147 Sekunden ermittelt. Die AUC betrug 0,728 (SE: 0,068), die Sensitivität 90% und die Spezifität 64%. Der  $CT_{RVV\text{-test}}$  Cut-off Wert für Rivaroxaban betrug 162 Sekunden mit einer AUC von 0,805 (SE: 0,066), einer Sensitivität von 90% und einer Spezifität von 66%. Die durchgeführte ROC-Analyse für die zusammengefassten FXa-Inhibitoren ergab einen  $CT_{RVV\text{-test}}$  Cut-off Wert von 147 Sekunden. Die AUC betrug hierbei 0,721 (SE: 0,058), eine Sensitivität von 83% und Spezifität von 64% [83].

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

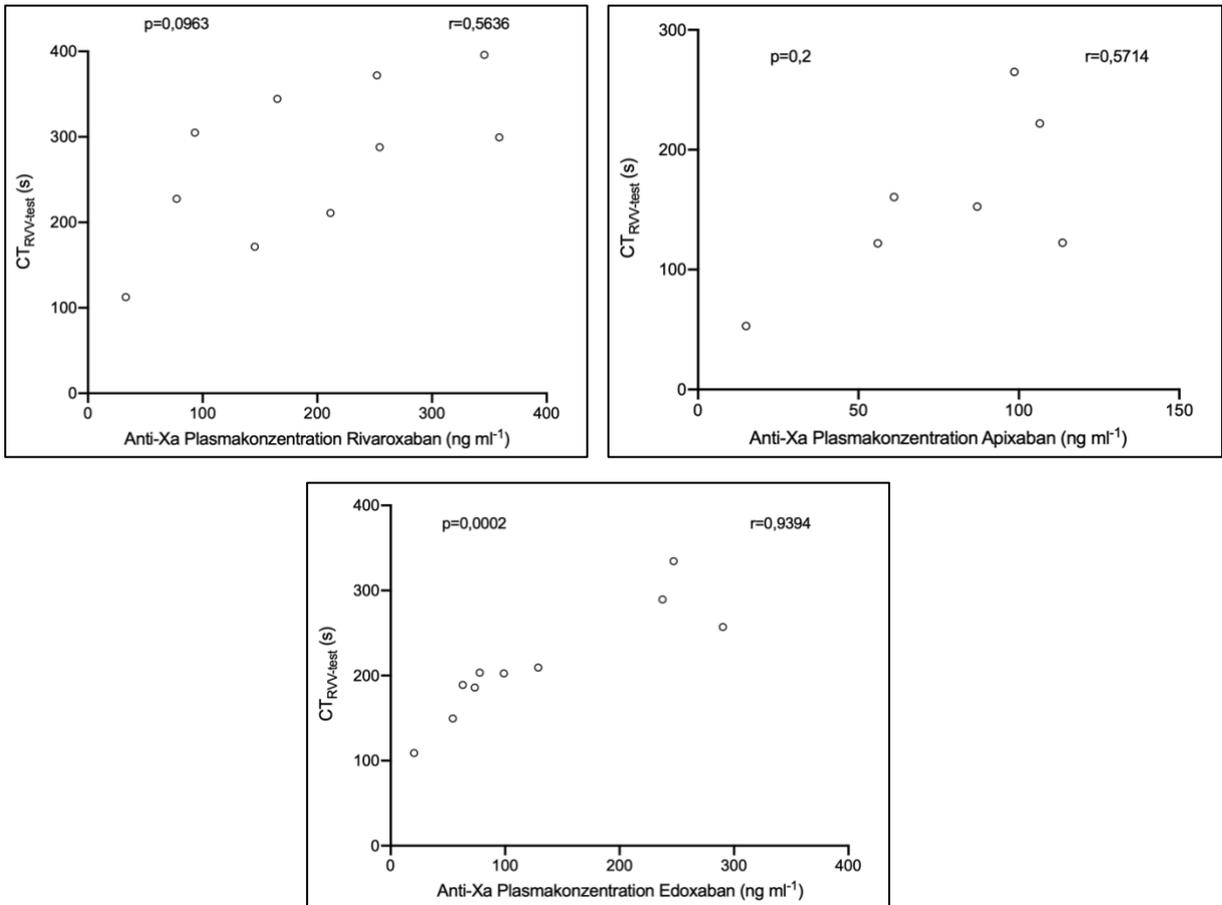


Abbildung 12 Spearman Korrelation zwischen Clotting Time (CT) in s im RVV-test und Anti-Xa Plasmakonzentration von Rivaroxaban, Apixaban und Edoxaban (ng ml<sup>-1</sup>)

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

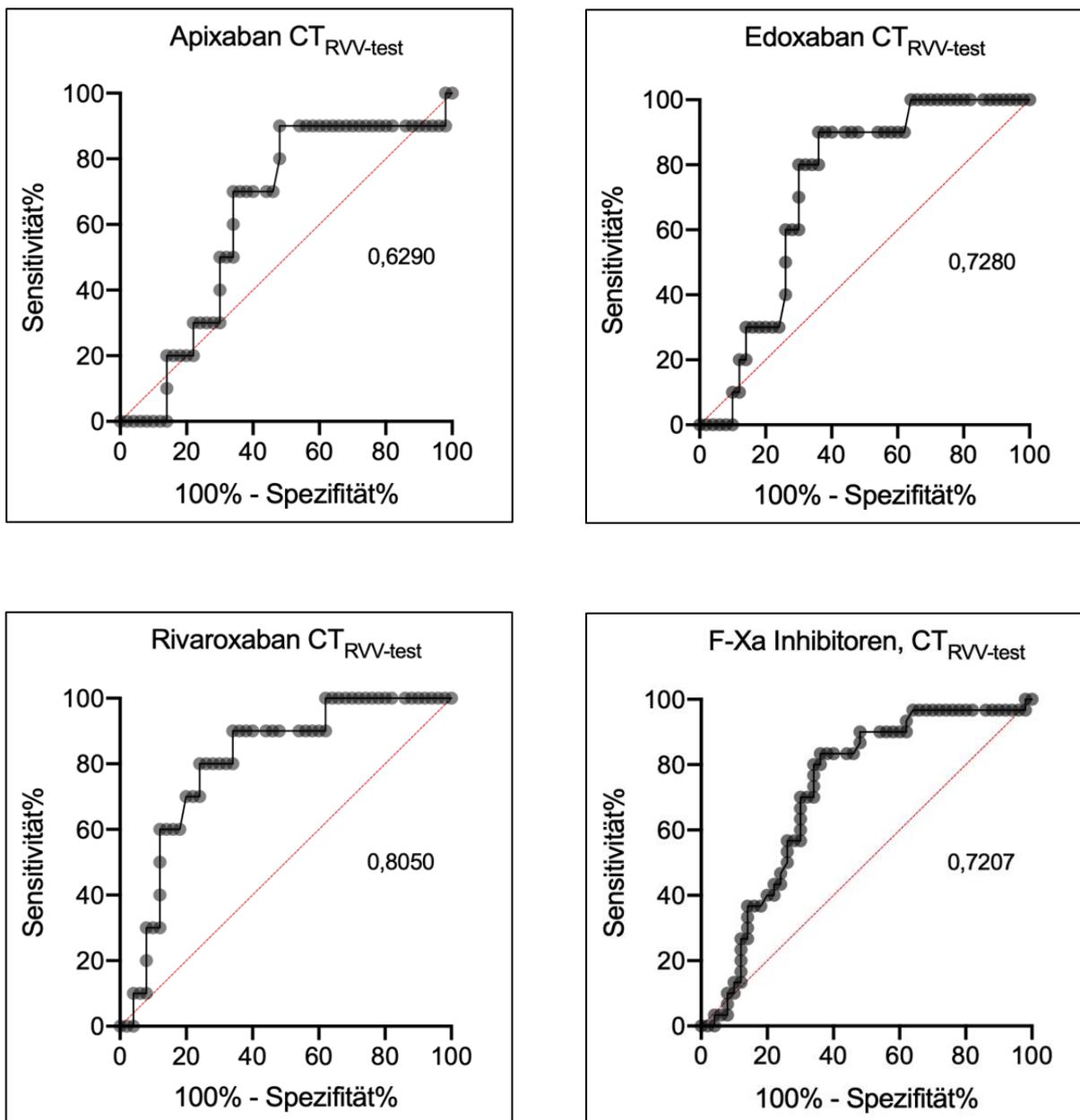


Abbildung 13 Receiver Operating Characteristic Kurve (ROC): Clotting Time (CT) RVV-test und Anti-Xa Plasmakonzentration von Rivaroxaban, Apixaban, Edoxaban und der zusammengefassten FXa-Inhibitoren im Vergleich zur Kontrollgruppe.

### 3.2.4.5 TPA-test

In allen acht Studiengruppen waren die medianen Werte der CT<sub>TPA-test</sub> vergleichbar mit denen der CT<sub>EX-test</sub>. Entsprechend war die CT<sub>TPA-test</sub> bei Patienten unter Dabigatran, den Faktor-Xa-Inhibitoren und Phenprocoumon im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant verlängert. Lediglich Dabigatran hatte im TPA-test einen erkennbaren Effekt auf die Lyse. Dieser zeigte sich am deutlichsten in der Lysis onset time (LOT) mit medianen 52 Sekunden (40-63 s) und war somit signifikant zur Kontrollgruppe verkürzt (99 Sekunden [83-101 s];  $p = 0,0086$ ). In der Dabigatran-Gruppe stellte sich die

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

LOT<sub>TPA-test</sub> signifikant kürzer als in allen anderen Substanzgruppen dar (FXa-Inhibitoren: p = 0,0013; Phenprocoumon: p = 0,0004; NMH: p = 0,0012; UFH: p = 0,0009) [83]. Statistisch signifikante Unterschiede ließen sich sowohl in der Lyse Zeit (LT) als auch in der maximalen Lyse (ML) bei Dabigatran im Vergleich zu Phenprocoumon (LT: p = 0,0009; ML: p = 0,0036), Dabigatran im Vergleich zu NMH (LT: p = 0,0116; ML: p = 0,0094) und Dabigatran im Vergleich zu UFH (LT: p = 0,0244; ML: p = 0,0164) feststellen. Diese Werte stellten jedoch keinen signifikanten Unterschied von Dabigatran zur Kontrollgruppe dar (Dabigatran LT: 173 [136-252] Sekunden; ML: 93 [92-95] % im Vergleich zur Kontrolle LT: 297 [235-431] Sekunden; ML 96 [95-96] %; p = 0,6161; p > 0,9999). Tabelle 14 fasst die viskoelastischen Daten im TPA-test zusammen.

Tabelle 14 Viskoelastometrische Daten im TPA-test

	Kontrolle (n=10)	Dabigatran (n=10)	Rivaroxaban (n=10)	Apixaban (n=10)	Edoxaban (n=10)	Phenprocoumon (n=10)	NMH (n=10)	UFH (n=10)
<b>CT</b> <sub>TPA-test</sub> [s]	39 (35-43)	147 (94-192) p<0,0001	87 (70-111) p=0,0007	55 (48-79) p=0,4457	92 (76-95) p=0,0001	83 (70-95) p=0,0007	49 (40-56) p>0,9999	54 (44-67) p>0,9999
<b>A05</b> <sub>TPA-test</sub> [mm]	17 (2-44)	0 (0-8) p>0,9999	15 (0-38) p>0,9999	43 (20-54) p>0,9999	26 (4-33) p>0,9999	48 (34-56) p=0,9593	40 (19-48) p>0,9999	32 (0-54) p>0,9999
<b>A10</b> <sub>TPA-test</sub> [mm]	0 (0-3)	0 (0-1) p>0,9999	0 (0-0) p>0,9999	0 (0-7) p>0,9999	0 (0-5) p>0,9999	3 (0-30) p>0,9999	0 (0-14) p>0,9999	0 (0-52) p>0,9999
<b>MCF</b> <sub>TPA-test</sub> [mm]	38 (34-45)	25 (21-33) p>0,9999	38 (24-45) p>0,9999	48 (41-55) p>0,9999	43 (30-48) p>0,9999	51 (45-56) p>0,9999	47 (42-54) p>0,9999	48 (36-59) p>0,9999
<b>LOT</b> <sub>TPA-test</sub> [s]	99 (83-101)	52 (40-63) p=0,0160	86 (69-100) p>0,9999	101 (83-121) p>0,9999	91 (70-102) p>0,9999	101 (87-113) p>0,9999	98 (89-106) p>0,9999	99 (84-116) p>0,9999
<b>LT</b> <sub>TPA-test</sub> [s]	297 (235-431)	173 (136-252) p=0,6161	281 (196-374) p>0,9999	422 (295-465) p>0,9999	319 (229-409) p>0,9999	456 (351-610) p>0,9999	379 (298-508) p>0,9999	368 (239-719) p>0,9999
<b>ML</b> <sub>TPA-test</sub> [%]	96 (95-96)	93 (92-95) p>0,9999	96 (94-96) p>0,9999	97 (96-97) p>0,9999	96 (95-96) p>0,9999	97 (97-97) p>0,9999	97 (96-97) p>0,9999	97 (96-97) p>0,9999

CT: Clotting time, A05, A10: Gerinnselfestigkeit 5 und 10 Minuten nach CT, MCF: Maximale Gerinnselfestigkeit, LOT: Lysis onset Time, LT: Lysis Time, ML: Maximale Lyse, NMH: niedermolekulares Heparin, UFH: unfraktioniertes Heparin

## **4 Diskussion**

In dieser vorgelegten Arbeit haben wir die Hypothesen geprüft, dass mittels neuer Testreagenzien der Viskoelastometrie im ClotPro® eine Detektion direkter oraler Antikoagulanzen möglich ist. Bereits der klassische EX-test kann Hinweise geben, ob ein DOAK eingenommen wurde, ist für eine weitere Differenzierung jedoch zu ungenau [83]. Durch Hinzunahme des Ecarin-basierten Test (ECA-test) ist eine spezifische und sensitive Detektion des Thrombin-Inhibitors Dabigatran möglich. Mittels des neuen Reagenz Russells Viper Venom (RVV-test) ist eine bessere Differenzierung zwischen den einzelnen FXa-Inhibitoren möglich. Die Verlässlichkeit und Anwendung der neuen Teste im klinischen Alltag werden im Folgenden diskutiert.

### **4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse**

Gegenwärtig stellen plasmatische, im Zentrallabor gemessene, Analysen den Standard bei antikoagulierten Patienten dar. Diese weisen Limitationen auf wie ich im nachfolgenden darlege, so dass bettseitige Messverfahren wie die Thrombelastometrie eine sinnvolle Ergänzung darstellen könnten, was ich im Rahmen meiner Promotionsarbeit analysiert habe.

#### Plasmatische Gerinnung

Die Verwendung von globalen Gerinnungstests als Screeningverfahren des antikoagulatorischen Effekts von Dabigatran, Rivaroxaban, Apixaban und Edoxaban wurden seit ihrer Zulassung in den letzten Jahren bereits mehrfach geprüft [41,50,53]. So wurden auch die Proben der vorliegenden Studie mit den klassischen Gerinnungstests im Institut für Laboratoriumsmedizin untersucht.

Die aPTT als Maßzahl für die Dauer der Aktivierung der intrinsischen Gerinnungskaskade dient unter anderem dem Nachweis und der Kontrolle einer Therapie mit unfraktioniertem Heparin [84]. Daher konnte auch in der vorliegenden Arbeit eine signifikante aPTT-Verlängerung in der Patientengruppe, welche mit UFH therapeutisch behandelt wurde, nachgewiesen werden. Als weitere Patientengruppe ließ sich diese signifikante Verlängerung der aPTT auf mediane 43 Sekunden nur noch in der Dabigatran-Gruppe feststellen [83]. Trotz hoher Signifikanz zeigten bereits einige Studien eine nur schwache Korrelation zwischen Plasmakonzentration von Dabigatran und aPTT [54,85,86]. Zwar können aPTT-Normwerte eine therapeutische

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

---

Dabigatran-Dosis nahezu ausschließen, jedoch nicht das generelle Vorhandensein einer Plasmakonzentration [55].

Ähnliche Ergebnisse zeigten Studien bei zeitgleich gemessenen INR-Werten und Dabigatran-Plasmakonzentrationen. Somit lag eine geringe Sensitivität der INR-Werte bei Dabigatran-Spiegeln, insbesondere bei solchen unterhalb des therapeutischen Bereichs, vor [56]. In der vorliegenden Arbeit konnten ebenfalls festgestellt werden, dass in der Dabigatran-Patientengruppe keine signifikante Erhöhung der INR erfolgte [83]. Wie zu erwarten befand sich die INR in der Phenprocoumon-Gruppe, bei gewünschter therapeutischer Einstellung, im signifikant erhöhten Bereich [83].

Einen hochsensitiven Laborwert der klassischen Gerinnungsanalytik zur Dabigatran-Detektion stellt die Thrombinzeit dar. Diverse Studien zeigten bereits, dass schon bei geringen Dabigatran-Plasmaspiegeln eine signifikante TZ-Verlängerung vorlag und eine normwertige TZ wiederum das Vorhandensein auch geringer Mengen von Dabigatran im Plasma nahezu ausschloss. Allerdings befanden sich die Thrombinzeiten oftmals schon bei subtherapeutischen Plasmaspiegeln von Dabigatran oberhalb des oberen Grenzbereiches [50]. D.h. die Thrombinzeit ist ein zu sensibles Verfahren. Im in vitro Teil meiner Studie war dies ab einer Dabigatran-Konzentration von 62,50 ng/ml der Fall (Thrombinzeiten > 150 s). Analog hierzu war die TZ bei Patienten unter Dabigatrantherapie verlängert. Ansonsten war die TZ auch bei Patienten unter UFH verlängert. Alle weiteren gerinnungshemmenden Medikamente, insbesondere die Gruppe der Faktor Xa-Inhibitoren, führten nicht zu einer Änderung der TZ [83]. Die in vielen Studien angewandte verdünnte Thrombinzeit ermöglicht im Vergleich zur TZ wiederum eine starke lineare Korrelation zu Dabigatran-Plasmakonzentrationen im therapeutischen Bereich, jedoch mit einer etwas geringeren Korrelation bei niedrigen (< 50 ng/ml) oder sehr hohen (> 500 ng/ml) Plasmakonzentrationen [55,86,87]. Das in dieser Arbeit angewandte Kalibrationsplasma „Hemoclot Thrombin Inhibitor (HTI)“ der Firma Hyphen BioMed im Labor des Klinikums Großhadern, nutzt eine noch niedriger verdünnte Lösungsprobe und schließt somit Werte von 0,00 ng/ml in die Kalibrationskurve mit ein [41]. Mittels kalibrierter Ecarin-Gerinnungszeit (ECT) lässt sich ebenfalls mit hoher Sensitivität die direkte Dabigatran-Aktivität messen und gleichzeitig besteht eine starke Korrelation mit sowohl sub- als auch supratherapeutischen Konzentrationen [55,88]. Allerdings sind die auf Ecarin basierten Testverfahren kostenintensiver und nicht so weit verbreitet wie die Anti-IIa-Bestimmung mittels verdünnter Thrombinzeit, weswegen wir

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

---

hier einen Ecarin basierten thrombelastometrischen Test, aber nicht die im Zentrallabor gemessene Ecarinzeit gemessen haben. [50].

Bei der Substanzklasse der Faktor-Xa-Inhibitoren stellte sich bei Apixaban und Edoxaban keine signifikante Veränderung der Gerinnungsvariablen im Vergleich zur Kontrollgruppe ein. Lediglich bei Rivaroxaban ließ sich bei der INR eine Erhöhung der Werte im Vergleich zur Kontrolle und auch im Vergleich zu den anderen FXa-Inhibitoren feststellen [83]. Ähnliche Beobachtungen machten auch Samuelson et al. bei der Überprüfung und Zusammenfassung mehrerer Studien zur Laboranalytik bei DOAK. Hier wird meist mit der Prothrombinzeit (PT) als Variable für die extrinsische Gerinnungskaskade gearbeitet [50]. Die PT ist vor allem in den USA ein häufig verbreiteter Parameter, jedoch labor- und gerätespezifisch und daher erfolgt meist eine Normierung und die Angabe als INR. Hierfür wird die Thromboplastinzeit einer Patientenprobe ins Verhältnis zu einer von der WHO standardisiert gemessenen Thromboplastinzeit gesetzt und schließlich mit dem International Sensitivity Index (ISI) potenziert [89,90].

Abhängig von der Konzentration, fand bei Rivaroxaban sowohl eine Verlängerung der PT als auch der aPTT statt, deren Sensitivität wiederum stark vom verwendeten Reagenz abhängig war [50,51]. Für die beiden weiteren FXa-Inhibitoren Apixaban und Edoxaban zeigten sich in der vorliegenden Arbeit sowie in anderen Studien keine Veränderungen der plasmatischen Gerinnungslaborwerte. Somit lassen sich keine Rückschlüsse auf einen antikoagulatorischen Effekt ziehen [83].

Die Flüssigkeitschromatographie gekoppelt mit Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS) stellt entsprechend der Empfehlungen des ICSH (International Council for Standardization in Haematology) den Goldstandard zur Messung von DOAK-Plasmakonzentrationen dar [66]. Dieser ist aufgrund der komplexen und zeitintensiven Methodik jedoch kein Verfahren für klinische Routinemessungen [53]. Alternativ eignen sich DOAK-spezifisch kalibrierte Tests wie beispielsweise Ecarin basierte Tests, die verdünnte Thrombinzeit und kalibrierte chromogene Anti-FXa-Assays für die FXa-Inhibitoren [66]. Insbesondere die Empfehlung von Schwellenwerten im niedrigen Konzentrationsbereich von 30 bis 50 ng/ml vor invasiven Maßnahmen, elektiven Operationen oder vor einer Lysetherapie bei Schlaganfallpatienten verdeutlichen den Stellenwert einer quantifizierten Messung [91,92]. Doch diese Verfahren sind nicht flächendeckend in allen Kliniken vorhanden. Außerdem werden in unterschiedlichen Laboratorien verschiedene Testkalibratoren und Reagenzien verwendet. Eine

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

---

internationale Standardisierung der Testverfahren für jedes einzelne DOAK wäre nötig um multizentrische Vergleiche zu ermöglichen.

Um generell eine schnell zur Verfügung stehende, kostengünstige, zeitnahe und mit wenig Arbeitsaufwand und Expertise umsetzbare Gerinnungsdiagnostik durchführen zu können bieten schon seit längerer Zeit Point-of-Care Verfahren eine im klinischen Alltag ergänzende Testmethode. Um insbesondere im Feld der DOAK-Detektion neue Ansätze zu unterstützen werden nun die in dieser Arbeit entstandenen viskoelastometrischen Testverfahren und Ergebnisse diskutiert.

### Viskoelastometrische Ergebnisse

Sowohl im in vitro Studienteil als auch bei der Untersuchung der Patientengruppen, zeigte der direkte Thrombininhibitor Dabigatran in allen fünf durchgeführten viskoelastometrischen Tests eine signifikant verlängerte CT [83]. Dass Dabigatran als einziges Antikoagulanz die CT im ECA-test verlängerte, betont die bereits beschriebene Sensitivität Ecarin basierter Testverfahren. Ab einem Cut-Off Wert von 128 Sekunden liegen Sensitivität und Spezifität zum Nachweis von Dabigatran bei 100% [83]. Zudem besteht eine starke Korrelation zwischen der Plasmakonzentration von Dabigatran und der  $CT_{ECA-test}$ . [83,93].

Die zusammengefasste Substanzgruppe der FXa-Inhibitoren verlängerte ebenfalls die CT im EX-, IN-, RVV- und TPA-test, jedoch nicht im ECA-test, dies bestätigt die Spezifität des ECA-test für direkte Thrombininhibitoren. Der Einfluss von FXa-Inhibitoren auf die CT war im Vergleich zu Dabigatran allerdings geringer [83]. Lediglich im RVV-test zeigte die mediane CT eine vergleichbare Länge bei den FXa-Inhibitoren und der Dabigatran-Gruppe. Eine starke positive Korrelation konnte zwischen der  $CT_{RVV-test}$  und der Plasmakonzentration der FXa-Inhibitoren beobachtet werden. Bei der Betrachtung der einzelnen FXa-Inhibitoren zeigte sich eine solch starke Korrelation nur in der Patientengruppe mit Edoxaban. Bei Rivaroxaban und Apixaban bestätigte sich dieser Zusammenhang allerdings nicht [83]. Wohingegen Oberladstätter und Kollegen auch bei Rivaroxaban und Apixaban starke Korrelationen zwischen  $CT_{RVV-test}$  und den jeweiligen Plasmaspiegelkonzentrationen erzielen konnten. Allerdings zeigte auch dort bei Edoxaban die stärkste und bei Apixaban die schwächste Korrelation [93]. Diese Diskrepanz lässt sich wahrscheinlich durch die in der hier vorliegenden Arbeit kleineren Patientengruppe erklären. Zusammenfassend lässt sich also sagen, dass der ECA-Test hochsensitiv und spezifisch Dabigatran

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

---

detektiert, der RVV-Test hilfreich für den Nachweis von Faktor-Xa-Inhibitoren ist, jedoch die CT-Verlängerung nicht bei allen Substanzen einen Rückschluss auf die Vollblutkonzentration erlaubt.

Im Vergleich zur Kontrolle war bei Phenprocoumon eine signifikant verlängerte CT im EX- und TPA-test festzustellen, UFH verlängerte die CT signifikant ausschließlich im RVV-test. NMH zeigten bei keinem der fünf Tests einen signifikant verlängerten Effekt auf die CT [83].

Vorangegangene Studien, die teilweise aus unserer Arbeitsgruppe stammen, untersuchten bereits mit den bis dahin verfügbaren viskoelastometrischen Testverfahren ROTEM® und TEG 6s® die Möglichkeit der DOAK-Detektion [77–81,94–98].

Hinsichtlich des Einflusses von Dabigatran konnten Solbeck et al. eine dosisabhängige lineare Verlängerung des Parameters R im TEG®-Verfahren feststellen. Der R-Wert entspricht der CT bei ROTEM®- beziehungsweise ClotPro®-Analysen. Ebenso konnten Korrelationen der Konzentration und der ECT und zu Hemoclot® gezeigt werden [78]. Bliden et al. untersuchten ebenfalls den DOAK-Effekt auf den R-Wert und konnten signifikante Verlängerungen im Vergleich zur Kontrollgruppe darstellen und antikoagulatorische Effekte der DOAK detektieren [98]. Mit einem neuen ROTEM® Assay, welches Ecarin zur Aktivierung nutzt, konnten Körber et al. eine signifikante Korrelation der CT und der Plasmakonzentration von Dabigatran zeigen. Die Werte des sogenannten ECATEM waren zudem vergleichbar mit denen der verdünnten Thrombinzeit mittels Hemoclot®-Assay [94]. Der Effekt von Rivaroxaban und Apixaban auf die ROTEM®-Analyse wurden ebenfalls mehrfach untersucht. Zum Teil konnten auch niedrigere und somit prophylaktische Dosen abgebildet werden, was in der vorliegenden Studie am ClotPro® signifikant nur für Edoxaban nicht aber für Rivaroxaban und Apixaban erzielt werden konnte. Dosisabhängige Effekte konnten von Adelman et al. als auch von Schenk et al. gezeigt werden [95,96,99]. Seyve et al. fanden zwar einen DOAK konzentrationsabhängigen Anstieg der CT im ROTEM vor allem im EXTEM und auch im INTEM, allerdings konnten insbesondere die niedrigen Konzentrationen (50 ng/ml), wie auch im vorliegenden Studienteil, nicht abgebildet werden [77,83]. In einer weiteren Untersuchung unserer Arbeitsgruppe konnten Schäfer et al. im Rahmen einer Studie mit modifizierten ROTEM®-Assays, dem TFTEM und einem sogenannten Xa-Inhibitor-Catcher und dem ECATEM mit Ila-Inhibitor-Catcher arbeiten. Im Vergleich zum EXTEM enthält TFTEM nur 10% der

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

---

Gewebefaktor-Konzentration (Tissue Factor) und macht dieses Reagenz somit sensitiver für Veränderungen in der Thrombinbildung. Hiermit ließen sich Dabigatran und Rivaroxaban schon nach der Ersteinnahme detektieren und differenzieren [81]. Somit wurde mit dem TFTEM neben dem RVV-test ebenfalls ein Ansatz zur besseren Detektion der FXa-Inhibitoren angewandt. Eine Differenzierung mittels TFTEM erfolgte bisher noch in keiner Studie und Oberladstätter et al. konnten in ihrer Arbeit mittels RVV-test ebenfalls lediglich eine Detektion jedoch keine Differenzierung zwischen Rivaroxaban, Apixaban und Edoxaban erreichen [93].

Insgesamt wird die Vergleichbarkeit der Studien untereinander dahingehend erschwert, dass unterschiedliche, zum Teil neue modifizierte Test-Assays verwendet werden und zwischen in vivo und in vitro Studien differenziert werden muss.

Die vorliegende Studie verdeutlicht, dass die Viskoelastometrie für eine gewisse Auswahl an Antikoagulanzen, einschließlich der DOAK, ein sensitives Messverfahren darstellt. Das Testverfahren konnte mit den neuartigen Reagenzien Russels Viper Venom, zur Detektion des Thrombin-Inhibitors Dabigatran, und Ecarin, für die FXa-Inhibitoren-Detektion, erfolgreich erweitert werden [83]. Sie ermöglichen zunehmend eine Differenzierung der direkten oralen Antikoagulanzen. Um das Potential der CT im RVV-test zur Quantifizierung der FXa-Inhibitoren und NMH Plasmakonzentrationen zu bestätigen, sind weitere Studien nötig und bereits in Planung. Durch die starke Korrelation zwischen  $CT_{ECA\text{-test}}$  und der Anti-IIa Aktivität sowie der hohen Sensitivität und Spezifität wird das Potenzial für die klinische Praxis verdeutlicht. Somit können in kürzerer Zeit bettseitige Ergebnisse geliefert und therapeutische Entscheidungen getroffen werden. Vorangegangene Studien mit viskoelastischen Messmethoden via ROTEM stimmen mit den hier vorliegenden Daten überein und zeigten ebenfalls, dass ein Ecarin basierter Test hoch spezifisch und sensitiv auf den direkten Thrombin-Inhibitor ist [81].

## **4.2 Zusammenfassung des Studiendesigns**

In dieser Studie wurden Blutproben von 10 gesunden Probanden mit dem direkten Thrombininhibitor Dabigatran oder dem neuesten der Faktor Xa-Inhibitoren Edoxaban in aufsteigender Konzentration inkubiert. Zudem wurde in einem weiteren Studienteil das Blut von insgesamt 70 Patienten, welche ein Antithrombotikum oder Antihämorrhagikum in ihrer Dauermedikation enthielten, untersucht. Eine erneute gesunde Probandengruppe diente im zweiten Studienteil als Kontrolle. In beiden

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

---

Versuchsteilen wurden die Blutproben sowohl in der klassischen Labormedizin untersucht als auch viskoelastometrische Messungen mittels Point-of-Care Diagnostik (ClotPro®) vorgenommen. Die methodische Durchführung wird nun beurteilt.

### **4.3 Diskussion der Methoden**

Abschließend erfolgt eine kritische Betrachtung der Studiendurchführung und Messmethodik.

Bei dieser Untersuchung handelte es sich um eine monozentrische prospektive Datenerhebung. Weitere multizentrische Studien wären wünschenswert. Das Patienten- bzw. Probandenkollektiv beider Studiengruppen enthielt zudem eher geringe Stichprobenumfänge. Zusätzlich wurden die Blutproben im ersten Studienteil mit aufsteigenden DOAK-Plasmaspiegeln in vitro inkubiert und bearbeitet. Eine Vergleichbarkeit dieser standardisierten Messung mit in vivo Ergebnissen ist daher verfahrensimmanent eingeschränkt. Insbesondere die Komplexität einer traumatischen Koagulopathie mit Verdünnungseffekt, Endothelschaden, Hypothermie, Azidose und Thrombozytendysfunktion kann nur inkomplett in vitro abgebildet werden und wurde daher in der vorliegenden Studie nicht untersucht. Jedoch konnten durch die standardisierten Dosis-Wirkungskurven die Funktionalität der neuen Assays im ClotPro® nachgewiesen werden. Studien mit Anwendung im klinischen Alltag werden folgen. Im in vitro Studienteil wurden zudem neben dem einzigen oralen direkten Thrombin-Inhibitor Dabigatran nur einer der drei Anti-Xa-Inhibitoren – Edoxaban – untersucht und nicht Rivaroxaban und Apixaban. Insbesondere Apixaban stellt sich in bisherigen Studien als schwerer zu detektieren dar. Dies konnte auch im in vivo Studienteil festgestellt werden [83]. Im in vivo Studienteil ergaben sich allerdings durch undefinierte Abnahmezeitpunkte der Blutproben eine größere Streuung an Messergebnissen, die zwar die Herausforderung im klinischen Alltag widerspiegelt, aber zusätzlich eine niedrige Anzahl der einzelnen Plasmaspiegelproben von Tal- und Spitzenspiegeln beinhaltete. Insbesondere niedrige Plasmaspiegel-Werte müssten für entsprechende validierte Entscheidungsalgorithmen vermehrt untersucht und evaluiert werden. Ein Ansatz zur Etablierung eines Algorithmus beziehungsweise Entscheidungsbaumes wurde bereits in unserer Arbeitsgruppe von Schäfer et al. untersucht [80]. Des Weiteren muss die zusätzliche Behandlung mit Thrombozytenaggregationshemmern wie Clopidogrel oder Prasugrel sowie die doppelte Plättchenhemmung und deren Effekt auf die Viskoelastometrie in weiteren

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

---

Studien untersucht werden. In der vorliegenden Arbeit wurden Patienten unter Therapie mit Clopidogrel oder Prasugrel nicht eingeschlossen.

#### **4.4 Ausblick**

Durch die Einführung der DOAK ergab sich ein deutlicher Fortschritt in der oralen Antikoagulation. Die meisten Guidelines besagen, dass Patienten unter DOAK-Therapie bei ausreichender Pausierung von 48-85 Stunden ohne weitere Testungen sicher operiert oder invasiven Maßnahmen unterzogen werden können. Vorausgesetzt ist eine normale Nierenfunktion [92,100]. Doch bei Verfügbarkeit sprechen sich nun doch vermehrt Experten für eine Durchführung von Plasmaspiegelbestimmungen aus, um eine erhöhte medico-legale Sicherheit zu gewährleisten [101–103].

Um die gerinnungshemmende Wirkung der DOAK in Notfallsituationen aufheben zu können, bieten mittlerweile verfügbare Antidota eine wichtige Therapieoption bei lebensbedrohlichen Blutungen. Zukünftig müssen somit auch der Effekt von Idarucizumab und Andexanet alfa auf viskoelastometrische Testverfahren untersucht werden. Zudem muss die Durchführbarkeit viskoelastometrischer Tests in Notfallsituationen im operativen Setting und in der Schockraumversorgung kritisch betrachtet werden. Bettseitiges POCT bindet vor Ort personelle Ressourcen, wohingegen Anti-IIa/Anti-Xa Tests durch labormedizinisches Personal durchgeführt werden können. Somit wäre eine Standardisierung durch automatische Testkartuschen, vergleichbar dem ROTEM® sigma, ein weiteres Ziel für die Etablierung modifizierter viskoelastometrischer Test-Assays zur schnellen und einfachen Detektion von DOAK.

Neben der schnelleren und sicheren, adäquaten Patientenversorgung bietet der Kostenfaktor einen weiteren Anreiz zur Forschung der DOAK-Detektion. Halten die viskoelastometrischen Testverfahren sich mit den Anti-IIa/Anti-Xa Tests noch die Waage, ist es vor allem der Einsatz der spezifischen Antidote, der sehr hohe Kosten verursacht. Daher ist insbesondere eine evidenzbasierte schnelle Entscheidung ob und welches spezifische Antidot indiziert ist von klinischem und wirtschaftlichem Interesse. Neben dem TEG®6, ROTEM® und ClotPro® wurden noch weitere Studien zur DOAK-Detektion via CoaguChek® (Roche Diagnostics, Basel, Schweiz) durchgeführt sowie ein Urintest zur Anti-IIa/Xa Detektion, der sogenannte DOAC-Dipstick (Doasence GmbH, Heidelberg, Deutschland), auf den Markt gebracht

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

---

[53,104–106]. Die Vielzahl an Studien und angewendeten Testmethoden zeigen, dass bisher noch kein validiertes, schnell und einfach durchführbares, standardisiertes POCT zur Messung und Detektion von DOAK zur Verfügung steht, das die Anforderungen bezüglich Zuverlässigkeit, Validität und Objektivität erfüllt [50,53].

Das Gebiet der Viskoelastometrie ist in den letzten Jahren schnell gewachsen und erfährt durch große klinische Studien, Forschung und Finanzierungen aus der Industrie zunehmend an Bedeutung. Waren in den ersten Jahrzehnten noch wenige Hersteller auf dem Markt, wurde dieser in den letzten Jahren durch innovative Neuerungen und Technologien erweitert. Insbesondere der vielseitige, schnelle und einfache Einsatz steht im Focus der Entwicklungen, um Ärzten Informationen über den Gerinnungszustand der Patienten zu liefern. Der Einsatz der Viskoelastometrie umfasst mittlerweile die Traumatologie und akute Blutungen, operative Organtransplantation, interventionelle Kardiologie, Herzchirurgie, Geburtshilfe und Überwachung der Antikoagulationstherapie. Die Fähigkeit der viskoelastometrischen Tests schnelle und eindeutige Informationen über den gesamten hämostatischen Zustand eines Patienten zu liefern, wird in den kommenden Jahren eine weitere Verbesserung der Patientenversorgung ermöglichen. Neue Geräte und Technologien müssen jedoch im klinischen Einsatz weiter geprüft und verglichen werden. Um multizentrische und internationale Vergleiche zu ermöglichen sind zudem Standardisierungen und Algorithmen nötig.

## **5 Zusammenfassung**

In den Industrieländern stellen kardiovaskuläre Erkrankungen, insbesondere arterielle und venöse thrombembolische Ereignisse, die häufigste Todesursache dar [107]. Daher werden weltweit viele Millionen Patienten zur Primär- und Sekundärprophylaxe mit oralen oder parenteralen gerinnungshemmenden Substanzen behandelt. Seit 2011 nehmen hierbei die direkten oralen Antikoagulanzen einen zunehmenden Stellenwert ein. Der zunehmende Einsatz der DOAK erfordert jedoch auch Kenntnisse über Therapiemöglichkeiten im Falle schwerer Blutungen in Notfallsituationen oder vor dringlichen Operationen beziehungsweise Interventionen. Die zunächst von Herstellern nicht erforderliche Plasmakonzentrationsbestimmungen werden in eben diesen besonderen Situationen zur Entscheidungsfindung erforderlich. Routine-Labortests liefern hierzu jedoch keine ausreichenden Informationen oder sind mit viel Zeitaufwand verbunden. Diese Studie wurde durchgeführt, um den Einfluss von Antikoagulanzen auf die Ergebnisse viskoelastometrischer Tests zu untersuchen. Hierfür kam das ClotPro®-Gerät und dessen neue Testreagenzien zur Anwendung.

Die prospektive Beobachtungsstudie wurde zunächst *in vitro* mit dem Vollblut gesunder Probanden und Dosis-Wirkungskurven zu Dabigatran und Edoxaban durchgeführt. In einem weiteren Studienteil wurde das Blut von Patienten unter Therapie mit Dabigatran, Rivaroxaban, Apixaban, Edoxaban, Phenprocoumon, niedermolekularem Heparin oder unfraktioniertem Heparin viskoelastometrisch untersucht. Eine gesunde Probandengruppe diente als Kontrolle. Es wurden die viskoelastometrischen Assays extrinsischer Test (EX-test), der intrinsische Test (IN-test), der Russels Viper Venom Test (RVV-test), der Ecarin Test (ECA-test) und der Gewebeplasminogenaktivator Test (TPA-test) durchgeführt [83].

Für den *in vitro* Teil wurden zehn gesunde Probanden und für den *in vivo* Studienteil 70 Patienten und zehn weitere gesunde Probanden rekrutiert. Die Clotting Time im EX-test war gegenüber den Kontrollen in den Gruppen Dabigatran, FXa-Inhibitoren und Phenprocoumon signifikant verlängert. Die  $CT_{IN-test}$  wurde durch Dabigatran, die FXa-Inhibitoren und UFH verlängert. Eine signifikante Verlängerung der  $CT_{RVV-test}$  stellte sich bei Dabigatran, den FXa-Inhibitoren, und UFH im Vergleich zur Kontrolle ein (Median 200 s, 207 s, 289 s im Vergleich zu 63 s;  $p < 0,005$ ). Lediglich Dabigatran führte zu einem signifikanten Anstieg in der  $CT_{ECA-test}$  im Vergleich zur Kontrollgruppe (Median 307 vs. 73 s;  $p < 0,0001$ ). Die  $CT_{ECA-test}$  korrelierte stark mit der Dabigatran-Plasmakonzentration, welche anhand der Anti-IIa-Aktivität gemessen wurde ( $r =$

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.**

---

0,9970;  $p < 0,0001$ ) und lieferte 100% Sensitivität und 100% Spezifität für den Nachweis von Dabigatran. Die Plasmakonzentrationen der FXa-Inhibitoren korrelierte mit der  $CT_{RVV\text{-test}}$  ( $r = 0,7998$ ;  $p < 0,0001$ ) und zeigte für den Nachweis von FXa-Inhibitoren eine Sensitivität von 83% und eine Spezifität von 64% [83].

Die vorliegende Studie konnte zeigen, dass viskoelastometrische Untersuchungen mit den neuen Testreagenzien Russel Viper Venom und Ecarin basiert dabei helfen können, Antikoagulanzen zu detektieren. Der klinische Einsatz, insbesondere in Notfallsituationen, und die Etablierung standardisierter Algorithmen müssen noch weiter ausgebaut und untersucht werden.

## 6 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Messprinzip ClotPro®.....	13
Abbildung 2 grafische Darstellung der Viskoelastometrie.....	13
Abbildung 3 in vitro Dosis-Wirkungskurve der thrombelastometrischen Variable CT <sub>EX-test</sub> (s) und aufsteigende Konzentration von Dabigatran und Edoxaban.....	32
Abbildung 4 in vitro Dosis-Wirkungskurve der thrombelastometrischen Variable CT <sub>IN-test</sub> (s) und aufsteigende Konzentration von Dabigatran und Edoxaban.....	33
Abbildung 5 in vitro Dosis-Wirkungskurve der thrombelastometrischen Variable CT <sub>ECA-test</sub> (s) und aufsteigende Konzentration von Dabigatran und Edoxaban.....	34
Abbildung 6 Spearman-Korrelation zwischen CT <sub>ECA-test</sub> (s) und der Anti-IIa Plasmakonzentration von Dabigatran.....	34
Abbildung 7 in vitro Dosis-Wirkungskurve der thrombelastometrischen Variable CT <sub>RVV-test</sub> (s) und aufsteigende Konzentration von Dabigatran und Edoxaban.....	35
Abbildung 8 Spearman-Korrelation zwischen CT <sub>RVV-test</sub> (s) und der Anti-Xa Plasmakonzentration von Rivaroxaban, Apixaban und Edoxaban.....	35
Abbildung 9 in vitro Dosis-Wirkungskurve der thrombelastometrischen Variable CT <sub>TPA-test</sub> (s) und aufsteigende Konzentration von Dabigatran und Edoxaban.....	36
Abbildung 10 zeigt Medianwerte und 25%- und 75%-Quartil der CT in s im EX-test der Kontrollgruppe und der Antikoagulanzen-Gruppen.....	43
Abbildung 11 zeigt Medianwerte und 25%- und 75%-Quartil der CT in s im IN-test der Kontrollgruppe und der Antikoagulanzen-Gruppen.....	44
Abbildung 12 Spearman Korrelation zwischen CT (RVV-test) und Anti-Xa Plasmakonzentration von Rivaroxaban, Apixaban und Edoxaban.....	49

## 7 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 DOAK-Konzentration in aufsteigender Reihenfolge.....	22
Tabelle 2 Zielkonzentrationen (K0-K5) .....	23
Tabelle 3 Probandencharakteristika .....	29
Tabelle 4 Vorversuche .....	30
Tabelle 5 Hämostaseologische Globaltests .....	31
Tabelle 6 Viskoelastometrische Auswertung.....	37
Tabelle 7 Probanden- und Patientencharakteristika .....	38
Tabelle 8 Demographische und klinische Parameter der einzelnen Patientengruppen .....	40
Tabelle 9 Hämostaseologische Globaltests in vivo .....	41
Tabelle 10 Viskoelastometrische Daten im EX-test .....	42
Tabelle 11 Viskoelastometrische Daten im IN-test.....	44
Tabelle 12 Viskoelastometrische Daten im ECA-test.....	45
Tabelle 13 Viskoelastometrische Daten im RVV-test.....	47
Tabelle 14 Viskoelastometrische Daten im TPA-test .....	51

## 8 Literaturverzeichnis

- [1] Larson EA, German DM, Shatzel J, DeLoughery TG. Anticoagulation in the cardiac patient: A concise review. *Eur J Haematol* 2019;102:3–19.
- [2] Wille H. Antithrombotika und Antihämorrhagika. In: Ludwig W-D, Mühlbauer B, Seifert R, editors. *Arzneiverordnungs-Report 2021*, Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2021, p. 299–326.
- [3] Kearon C, Akl EA, Ornelas J, Blaivas A, Jimenez D, Bounameaux H, et al. Antithrombotic Therapy for VTE Disease: CHEST Guideline and Expert Panel Report. *Chest* 2016;149:315–52.
- [4] Lip GYH, Banerjee A, Boriani G, Chiang CE, Fargo R, Freedman B, et al. Antithrombotic Therapy for Atrial Fibrillation: CHEST Guideline and Expert Panel Report. *Chest* 2018;154:1121–201.
- [5] Hohnloser SH, Vámos M, Diener H-C. Vorhofflimmern: Wie effektiv und sicher sind die direkten oralen Antikoagulanzen zur Prävention von Schlaganfällen? *DMW-Deutsche Medizinische Wochenschrift* 2015;140:750–5.
- [6] Hart RG, Pearce LA, Aguilar MI. Meta-analysis: antithrombotic therapy to prevent stroke in patients who have nonvalvular atrial fibrillation. *Ann Intern Med* 2007;146:857–67.
- [7] Hart RG, Benavente O, McBride R, Pearce LA. Antithrombotic therapy to prevent stroke in patients with atrial fibrillation: a meta-analysis. *Ann Intern Med* 1999;131:492–501.
- [8] Meda Pharma GmbH & Co. KG. Fachinformation Marcumar® 2018.
- [9] Kuruvilla M, Gurk-Turner C. A review of warfarin dosing and monitoring. *Proc* 2001;14:305.
- [10] Gallagher AM, Rietbrock S, Plumb J, van Staa TP. Initiation and persistence of warfarin or aspirin in patients with chronic atrial fibrillation in general practice: do the appropriate patients receive stroke prophylaxis? *J Thromb Haemost* 2008;6:1500–6.
- [11] Pisters R, Lane DA, Nieuwlaat R, de Vos CB, Crijns HJGM, Lip GYH. A novel user-friendly score (HAS-BLED) to assess 1-year risk of major bleeding in patients with atrial fibrillation: the Euro Heart Survey. *Chest* 2010;138:1093–100.
- [12] Chai-Adisaksopha C, Crowther M, Isayama T, Lim W. The impact of bleeding complications in patients receiving target-specific oral anticoagulants: a systematic review and meta-analysis. *Blood* 2014;124:2450–8.
- [13] Connolly SJ, Ezekowitz MD, Yusuf S, Eikelboom J, Oldgren J, Parekh A, et al. Dabigatran versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med* 2009;361:1139–51.

- [14] Patel MR, Mahaffey KW, Garg J, Pan G, Singer DE, Hacke W, et al. Rivaroxaban versus warfarin in nonvalvular atrial fibrillation. *N Engl J Med* 2011;365:883–91.
- [15] Granger CB, Alexander JH, McMurray JJV, Lopes RD, Hylek EM, Hanna M, et al. Apixaban versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med* 2011;365:981–92.
- [16] Giugliano RP, Ruff CT, Braunwald E, Murphy SA, Wiviott SD, Halperin JL, et al. Edoxaban versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med* 2013;369:2093–104.
- [17] Caldeira D, Rodrigues FB, Barra M, Santos AT, de Abreu D, Gonçalves N, et al. Non-vitamin K antagonist oral anticoagulants and major bleeding-related fatality in patients with atrial fibrillation and venous thromboembolism: a systematic review and meta-analysis. *Heart* 2015;101:1204–11.
- [18] Cheung K-S, Leung WK. Gastrointestinal bleeding in patients on novel oral anticoagulants: Risk, prevention and management. *World J Gastroenterol* 2017;23:1954–63.
- [19] Ruff CT, Giugliano RP, Braunwald E, Hoffman EB, Deenadayalu N, Ezekowitz MD, et al. Comparison of the efficacy and safety of new oral anticoagulants with warfarin in patients with atrial fibrillation: a meta-analysis of randomised trials. *Lancet* 2014;383:955–62.
- [20] European Medicines Agency (EMA), European Public Assessment Report for Pradaxa, Product Information. Pradaxa 2018. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/pradaxa> (accessed January 17, 2021).
- [21] European Medicines Agency (EMA), European Public Assessment Report for Xarelto, Product Information. Xarelto 2018. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/xarelto> (accessed January 17, 2021).
- [22] European Medicines Agency (EMA), European Public Assessment Report for Eliquis, Product Information. Eliquis 2018. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/eliquis> (accessed January 17, 2021).
- [23] European Medicines Agency (EMA), European Public Assessment Report for Lixiana, Product Information. Lixiana 2018. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/lixiana> (accessed January 17, 2021).
- [24] Bayer Vital GmbH, Freigabe durch das Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM): 03/2020. Sicherheitshinweise zur Anwendung von Xarelto® (Rivaroxaban) 2020.

- [25] Hindricks G, Potpara T, Dagres N, Arbelo E, Bax JJ, Blomstro C, et al. 2020 ESC Guidelines for the diagnosis and management of atrial fibrillation developed in collaboration with the European Association of Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *Eur Heart J* 2020.
- [26] Douxfils J, Gosselin RC. Laboratory Assessment of Direct Oral Anticoagulants. *Semin Thromb Hemost* 2017;43:277–90.
- [27] Steffel J, Verhamme P, Potpara TS, Albaladejo P, Antz M, Desteghe L, et al. The 2018 European Heart Rhythm Association Practical Guide on the use of non-vitamin K antagonist oral anticoagulants in patients with atrial fibrillation. *Eur Heart J* 2018;39:1330–93.
- [28] Heidbuchel H, Verhamme P, Alings M, Antz M, Diener H-C, Hacke W, et al. Updated European Heart Rhythm Association Practical Guide on the use of non-vitamin K antagonist anticoagulants in patients with non-valvular atrial fibrillation. *Europace* 2015;17:1467–507.
- [29] Reilly PA, Lehr T, Haertter S, Connolly SJ, Yusuf S, Eikelboom JW, et al. The effect of dabigatran plasma concentrations and patient characteristics on the frequency of ischemic stroke and major bleeding in atrial fibrillation patients: the RE-LY Trial (Randomized Evaluation of Long-Term Anticoagulation Therapy). *J Am Coll Cardiol* 2014;63:321–8.
- [30] Pollack CV Jr, Reilly PA, Eikelboom J, Glund S, Verhamme P, Bernstein RA, et al. Idarucizumab for Dabigatran Reversal. *N Engl J Med* 2015;373:511–20.
- [31] Grottke O, Honickel M, van Ryn J, ten Cate H, Rossaint R, Spronk HM. Idarucizumab, a Specific Dabigatran Reversal Agent, Reduces Blood Loss in a Porcine Model of Trauma With Dabigatran Anticoagulation. *J Am Coll Cardiol* 2015;66:1518–9.
- [32] Connolly SJ, Crowther M, Eikelboom JW, Gibson CM, Curnutte JT, Lawrence JH, et al. Full Study Report of Andexanet Alfa for Bleeding Associated with Factor Xa Inhibitors. *N Engl J Med* 2019;380:1326–35.
- [33] Siegal DM, Curnutte JT, Connolly SJ, Lu G, Conley PB, Wiens BL, et al. Andexanet Alfa for the Reversal of Factor Xa Inhibitor Activity. *N Engl J Med* 2015;373:2413–24.
- [34] Ondexxya: EPAR-Medicine Overview. Available online. Ondexxya: EPAR-Medicine Overview n.d. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/ondexxya-epar-product-information\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/ondexxya-epar-product-information_en.pdf) (accessed February 6, 2022).
- [35] Ansell JE, Bakhru SH, Laulicht BE, Steiner SS, Grosso M, Brown K, et al. Use of PER977 to reverse the anticoagulant effect of edoxaban. *N Engl J Med* 2014;371:2141–2.

- [36] Ansell JE, Bakhru SH, Laulicht BE, Steiner SS, Grosso MA, Brown K, et al. Single-dose ciraparantag safely and completely reverses anticoagulant effects of edoxaban. *Thromb Haemost* 2017;117:238.
- [37] Hu TY, Vaidya VR, Asirvatham SJ. Reversing anticoagulant effects of novel oral anticoagulants: role of ciraparantag, andexanet alfa, and idarucizumab. *Vasc Health Risk Manag* 2016;12:35–44.
- [38] Levy JH, Ageno W, Chan NC, Crowther M, Verhamme P, Weitz JI, et al. When and how to use antidotes for the reversal of direct oral anticoagulants: guidance from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost* 2016;14:623–7.
- [39] Hegemann I, Ganter C, Widmer CC, Becker M, Müller D, Spahn DR. Ongoing redistribution of dabigatran necessitates repetitive application of idarucizumab. *Br J Anaesth* 2018;121:505–8.
- [40] Favaloro EJ, Lippi G. Laboratory Testing in the Era of Direct or Non-Vitamin K Antagonist Oral Anticoagulants: A Practical Guide to Measuring Their Activity and Avoiding Diagnostic Errors. *Semin Thromb Hemost* 2015;41:208–27.
- [41] Douxfils J, Ageno W, Samama C-M, Lessire S, Ten Cate H, Verhamme P, et al. Laboratory testing in patients treated with direct oral anticoagulants: a practical guide for clinicians. *J Thromb Haemost* 2018;16:209–19.
- [42] Lang T, Others. Diagnostische Möglichkeiten und Grenzen der Thrombelastometrie/-graphie. *Hämostaseologie* 2006;26:S20–9.
- [43] Adam EH, Meybohm P, Zacharowski K, Weber CF. Perioperative point-of-care coagulation testing--recently published studies. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 2013;48:346–50.
- [44] Spannagl M, Moessmer G. Hämostaseologische Globalteste. *Hämostaseologie* 2006;26:27–37.
- [45] Eikelboom JW, Hirsh J. Monitoring unfractionated heparin with the aPTT: time for a fresh look. *Thromb Haemost* 2006;96:547–52.
- [46] Pengo V, Denas G. Optimizing quality care for the oral vitamin K antagonists (VKAs). *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2018;2018:332–8.
- [47] Schöchel H, Voelckel W, Grassetto A, Schlimp CJ. Practical application of point-of-care coagulation testing to guide treatment decisions in trauma. *J Trauma Acute Care Surg* 2013;74:1587.
- [48] Haas T, Spielmann N, Mauch J, Madjdpour C, Speer O, Schmutz M, et al. Comparison of thromboelastometry (ROTEM®) with standard plasmatic coagulation testing in paediatric surgery. *Br J Anaesth* 2011;108:36–41.
- [49] Davenport R, Manson J, De'Ath H, Platton S, Coates A, Allard S, et al. Functional definition and characterisation of acute traumatic coagulopathy. *Crit Care Med* 2011;39:2652.

- [50] 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;151:127–38.
- [51] Gosselin R, Grant RP, Adcock DM. Comparison of the effect of the anti-Xa direct oral anticoagulants apixaban, edoxaban, and rivaroxaban on coagulation assays. *Int J Lab Hematol* 2016;38:505–13.
- [52] Ebner M, Birschmann I, Peter A, Härtig F, Spencer C, Kuhn J, et al. Limitations of Specific Coagulation Tests for Direct Oral Anticoagulants: A Critical Analysis. *J Am Heart Assoc* 2018;7:e009807.
- [53] Gosselin RC, Adcock DM, Douxfils J. An update on laboratory assessment for direct oral anticoagulants (DOACs). *Int J Lab Hematol* 2019;41 Suppl 1:33–9.
- [54] Gosselin RC, Adcock DM. The laboratory's 2015 perspective on direct oral anticoagulant testing. *J Thromb Haemost* 2016;14:886–93.
- [55] Douxfils J, Dogné J-M, Mullier F, Chatelain B, Rönquist-Nii Y, Malmström RE, et al. Comparison of calibrated dilute thrombin time and aPTT tests with LC-MS/MS for the therapeutic monitoring of patients treated with dabigatran etexilate. *Thromb Haemost* 2013;110:543–9.
- [56] Skeppholm M, Hjemdahl P, Antovic JP, Muhrbeck J, Eintrei J, Rönquist-Nii Y, et al. On the monitoring of dabigatran treatment in “real life” patients with atrial fibrillation. *Thromb Res* 2014;134:783–9.
- [57] Nishimura T, Guyette FX, Naito H, Nakao A, Brown JB, Callaway CW. Comparison of direct oral anticoagulant and vitamin K antagonists on outcomes among elderly and nonelderly trauma patients. *J Trauma Acute Care Surg* 2020;89:514–22.
- [58] Prexl O, Bruckbauer M, Voelckel W, Grottke O, Ponschab M, Maegele M, et al. The impact of direct oral anticoagulants in traumatic brain injury patients greater than 60-years-old. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med* 2018;26:20.
- [59] Maung AA, Bhattacharya B, Schuster KM, Davis KA. Trauma patients on new oral anticoagulation agents have lower mortality than those on warfarin. *J Trauma Acute Care Surg* 2016;81:652.
- [60] Grottke O, Frietsch T, Maas M, Lier H, Rossaint R, German Society of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine. [Dealing with massive bleeding and associated perioperative coagulopathy: recommendations for action of the German Society of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine]. *Anaesthesist* 2013;62:213–6, 218–20, 222–4.
- [61] Grottke O, Aisenberg J, Bernstein R, Goldstein P, Huisman MV, Jamieson DG, et al. Efficacy of prothrombin complex concentrates for the emergency reversal of dabigatran-induced anticoagulation. *Crit Care* 2016;20:115.

- [62] Kaatz S, Kouides PA, Garcia DA, Spyropolous AC, Crowther M, Douketis JD, et al. Guidance on the emergent reversal of oral thrombin and factor Xa inhibitors. *Am J Hematol* 2012;87 Suppl 1:S141-5.
- [63] Liesenfeld K-H, Staab A, Härtter S, Formella S, Clemens A, Lehr T. Pharmacometric characterization of dabigatran hemodialysis. *Clin Pharmacokinet* 2013;52:453–62.
- [64] Connors JM. Testing and monitoring direct oral anticoagulants. *Blood* 2018;132:2009–15.
- [65] Ebner M, Birschmann I, Peter A, Härtig F, Spencer C, Kuhn J, et al. Emergency Coagulation Assessment During Treatment With Direct Oral Anticoagulants: Limitations and Solutions. *Stroke* 2017;48:2457–63.
- [66] Gosselin RC, Adcock DM, Bates SM, Douxfils J, Favaloro EJ, Guoin-Thibault I, et al. International Council for Standardization in Haematology (ICSH) Recommendations for Laboratory Measurement of Direct Oral Anticoagulants. *Thromb Haemost* 2018;118:437–50.
- [67] Spahn DR, Bouillon B, Cerny V, Duranteau J, Filipescu D, Hunt BJ, et al. The European guideline on management of major bleeding and coagulopathy following trauma: fifth edition. *Crit Care* 2019;23:98.
- [68] Petrini P. Treatment strategies in children with hemophilia. *Paediatr Drugs* 2002;4:427–37.
- [69] Mannucci PM. Management of von Willebrand disease in developing countries. *Semin Thromb Hemost* 2005;31:602–9.
- [70] Hartert H. Blutgerinnungsstudien mit der Thrombelastographie, einem neuen Untersuchungsverfahren. *Klin Wochenschr* 1948;26:577–83.
- [71] Calatzis AN, Fritzsche P, Calatzis AL, Kling M, Hipp R, Stemberger A. A comparison of the technical principle of the roTEG coagulation analyser and conventional thrombelastographic systems. *Ann Hematol* 1996;72:87.
- [72] Camenzind V, Bombeli T, Seifert B, Jamnicki M, Popovic D, Pasch T, et al. Citrate storage affects Thrombelastograph® analysis. *The Journal of the American Society of Anesthesiologists* 2000;92:1242–9.
- [73] Calatzis A, Heesen M, Spannagl M. [Point-of-care testing of hemostatic alterations in anaesthesia and intensive care]. *Anaesthesist* 2003;52:229–37.
- [74] Hans GA, Besser MW. The place of viscoelastic testing in clinical practice. *Br J Haematol* 2016;173:37–48.
- [75] Hartmann J, Murphy M, Dias JD. Viscoelastic Hemostatic Assays: Moving from the Laboratory to the Site of Care—A Review of Established and Emerging Technologies. *Diagnostics* 2020;10:118.

- [76] Whiting P, Al M, Westwood M, Ramos IC, Ryder S, Armstrong N, et al. Viscoelastic point-of-care testing to assist with the diagnosis, management and monitoring of haemostasis: a systematic review and cost-effectiveness analysis. *Health Technol Assess* 2015;19:1–228, v–vi.
- [77] 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.
- [78] Solbeck S, Ostrowski SR, Stensballe J, Johansson PI. Thrombelastography detects dabigatran at therapeutic concentrations in vitro to the same extent as gold-standard tests. *Int J Cardiol* 2016;208:14–8.
- [79] Dias JD, Norem K, Doorneweerd DD, Thurer RL, Popovsky MA, Omert LA. Use of Thromboelastography (TEG) for Detection of New Oral Anticoagulants. *Arch Pathol Lab Med* 2015;139:665–73.
- [80] Schäfer ST, Otto A-C, Acevedo A-C, Görlinger K, Massberg S, Kammerer T, et al. Point-of-care detection and differentiation of anticoagulant therapy - development of thromboelastometry-guided decision-making support algorithms. *Thromb J* 2021;19:63.
- [81] Schäfer ST, Wiederkehr T, Kammerer T, Acevedo A-C, Feil K, Kellert L, et al. Real-time detection and differentiation of direct oral anticoagulants (rivaroxaban and dabigatran) using modified thromboelastometric reagents. *Thromb Res* 2020;190:103–11.
- [82] Enicor GmbH. *ClotPro\_User\_Manual\_enicor\_CE-DE-Rev001.pdf* 2019.
- [83] Groene P, Wagner D, Kammerer T, Kellert L, Giebl A, Massberg S, et al. Viscoelastometry for detecting oral anticoagulants. *Thromb J* 2021;19:18.
- [84] Smythe MA, Priziola J, Dobesh PP, Wirth D, Cuker A, Wittkowsky AK. Guidance for the practical management of the heparin anticoagulants in the treatment of venous thromboembolism. *J Thromb Thrombolysis* 2016;41:165–86.
- [85] Testa S, Legnani C, Tripodi A, Paoletti O, Pengo V, Abbate R, et al. Poor comparability of coagulation screening test with specific measurement in patients receiving direct oral anticoagulants: results from a multicenter/multiplatform study. *J Thromb Haemost* 2016;14:2194–201.
- [86] Antovic JP, Skeppholm M, Eintrei J, Boija EE, Söderblom L, Norberg E-M, et al. Evaluation of coagulation assays versus LC-MS/MS for determinations of dabigatran concentrations in plasma. *Eur J Clin Pharmacol* 2013;69:1875–81.
- [87] Bonar R, Favalaro EJ, Mohammed S, Pasalic L, Sioufi J, Marsden K. The effect of dabigatran on haemostasis tests: a comprehensive assessment using in vitro and ex vivo samples. *Pathology* 2015;47:355–64.

- [88] Hawes EM, Deal AM, Funk-Adcock D, Gosselin R, Jeanneret C, Cook AM, et al. Performance of coagulation tests in patients on therapeutic doses of dabigatran: a cross-sectional pharmacodynamic study based on peak and trough plasma levels. *J Thromb Haemost* 2013;11:1493–502.
- [89] Houdijk WPM, Van Den Besselaar AMHP. International multicenter international sensitivity index (ISI) calibration of a new human tissue factor thromboplastin reagent derived from cultured human cells. *J Thromb Haemost* 2004;2:266–70.
- [90] Jackson CM, Esnouf MP. Has the time arrived to replace the quick prothrombin time test for monitoring oral anticoagulant therapy? *Clin Chem* 2005;51:483–5.
- [91] Touzé E, Gruel Y, Gouin-Thibault I, De Maistre E, Susen S, Sie P, et al. Intravenous thrombolysis for acute ischaemic stroke in patients on direct oral anticoagulants. *Eur J Neurol* 2018;25:747-e52.
- [92] Douketis JD, Spyropoulos AC, Anderson JM, Arnold DM, Bates SM, Blostein M, et al. The Perioperative Anticoagulant Use for Surgery Evaluation (PAUSE) study for patients on a direct oral anticoagulant who need an elective surgery or procedure: design and rationale. *Thromb Haemost* 2017;117:2415–24.
- [93] Oberladstätter D, Voelckel W, Schlimp C, Zipperle J, Ziegler B, Grottko O, et al. A prospective observational study of the rapid detection of clinically-relevant plasma direct oral anticoagulant levels following acute traumatic injury. *Anaesthesia* 2020;n/a. <https://doi.org/10.1111/anae.15254>.
- [94] Körber MK, Langer E, Köhr M, Wernecke K-D, Korte W, von Heymann C. In vitro and ex vivo Measurement of Prophylactic Dabigatran Concentrations with a New Ecarin-Based Thromboelastometry Test. *Transfus Med Hemother* 2017;44:100–5.
- [95] Adelmann D, Wiegele M, Wohlgemuth RK, Koch S, Frantal S, Quehenberger P, et al. Measuring the activity of apixaban and rivaroxaban with rotational thrombelastometry. *Thromb Res* 2014;134:918–23.
- [96] Körber MK, Langer E, Ziemer S, Perzborn E, Gericke C, Heymann C von. Measurement and reversal of prophylactic and therapeutic peak levels of rivaroxaban: an in vitro study. *Clin Appl Thromb Hemost* 2014;20:735–40.
- [97] Dias JD, Lopez-Espina CG, Ippolito J, Hsiao LH, Zaman F, Muresan AA, et al. Rapid point-of-care detection and classification of direct-acting oral anticoagulants with the TEG 6s: Implications for trauma and acute care surgery. *J Trauma Acute Care Surg* 2019;87:364–70.
- [98] Bliden KP, Chaudhary R, Mohammed N, Muresan AA, Lopez-Espina CG, Cohen E, et al. Determination of non-Vitamin K oral anticoagulant (NOAC) effects using a new-generation thrombelastography TEG 6s system. *J Thromb Thrombolysis* 2017;43:437–45.

- [99] Schenk B, Würtinger P, Streif W, Sturm W, Fries D, Bachler M. Ex vivo reversal of effects of rivaroxaban evaluated using thromboelastometry and thrombin generation assay. *Br J Anaesth* 2016;117:583–91.
- [100] Gosselin RC, Adcock D, Dorgalaleh A, Favaloro EJ, Lippi G, Pego JM, et al. International Council for Standardization in Haematology Recommendations for Hemostasis Critical Values, Tests, and Reporting. *Semin Thromb Hemost* 2020;46:398–409.
- [101] Tripodi A, Marongiu F, Moia M, Palareti G, Pengo V, Poli D, et al. The vexed question of whether or not to measure levels of direct oral anticoagulants before surgery or invasive procedures. *Intern Emerg Med* 2018;13:1029–36.
- [102] Garcia D, Barrett YC, Ramacciotti E, Weitz JI. Laboratory assessment of the anticoagulant effects of the next generation of oral anticoagulants: Monitoring new oral anticoagulants. *J Thromb Haemost* 2013;11:245–52.
- [103] Görlinger K, Dirkmann D, Solomon C, Hanke AA. Fast interpretation of thromboelastometry in non-cardiac surgery: reliability in patients with hypo-, normo-, and hypercoagulability. *Br J Anaesth* 2013;110:222–30.
- [104] Harenberg J, Schreiner R, Hetjens S, Weiss C. Detecting Anti-IIa and Anti-Xa Direct Oral Anticoagulant (DOAC) Agents in Urine using a DOAC Dipstick. *Semin Thromb Hemost* 2019;45:275–84.
- [105] Fontana P, Alberio L, Angelillo-Scherrer A, Asmis LM, Korte W, Mendez A, et al. Impact of rivaroxaban on point-of-care assays. *Thromb Res* 2017;153:65–70.
- [106] Härtig F, Birschmann I, Peter A, Hörber S, Ebner M, Sonnleitner M, et al. Point-of-care testing of coagulation in patients treated with edoxaban. *J Thromb Thrombolysis* 2020;50:632–9.
- [107] The top 10 causes of death n.d. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death> (accessed February 6, 2022).

# 9 Anhang

## Patientencharakteristika-Bogen

Patientencharakteristika DOAK-Detektion	
BE Datum/Uhrzeit	
Pseudonym	
DOAK-Wirkstoff/Antikoagulanz	
Indikation für DOAK	
Hauptdiagnose	
Datum Ersteinnahme	
Zeitpkt. letzte Einnahme (h)	
Vorerkrankung 1	
Vorerkrankung 2	
Vorerkrankung 3	
Vorerkrankung 4	
Stationärer Aufenthalt	
Alter (Jahre)	
Geschlecht (m/w)	
Körpergröße (m)	
Gewicht (kg)	
BMI	
Blutdruck (mmHg)	
Herzfrequenz	
Sauerstoffsättigung	
ASA-Klassifikation	
Dauermedikation	

München, den \_\_\_\_\_ Verantwortlicher Arzt \_\_\_\_\_



## ClotPro® Reference Ranges

Test name	CT [s]	CFT [s]	A5 [mm]	A10 [mm]	A20 [mm]	MCF [mm]	ML [%]
<b>EX-test</b>	38 - 65 (35 - 67)	42 - 93 (40 - 115)	39 - 58 (36 - 61)	47 - 64 (46 - 67)	52 - 67 (51 - 70)	53 - 68 (51 - 70)	2 - 12 (1 - 12)
<b>FIB-test</b>	55 - 87 (47 - 92)	n.d.	6 - 21 (5 - 23)	7 - 23 (6 - 26)	8 - 25 (7 - 28)	9 - 27 (9 - 31)	0 - 2 (0 - 3)
<b>AP-test</b>	44 - 76 (44 - 81)	46 - 118 (37 - 125)	36 - 59 (33 - 61)	46 - 65 (42 - 66)	51 - 67 (48 - 70)	51 - 67 (50 - 70)	2 - 13 (2 - 13)
<b>IN-test</b>	139 - 187 (138 - 191)	52 - 139 (47 - 148)	32 - 53 (31 - 55)	41 - 61 (41 - 63)	48 - 65 (47 - 66)	49 - 65 (49 - 67)	1 - 11 (1 - 12)
<b>HI-test</b>	141 - 185 (135 - 191)	47 - 108 (42 - 117)	36 - 56 (35 - 64)	45 - 61 (44 - 65)	49 - 65 (48 - 68)	49 - 65 (48 - 68)	2 - 13 (1 - 14)
<b>RVV-test</b>	48 - 77 (46 - 81)	42 - 103 (37 - 107)	38 - 55 (35 - 56)	47 - 63 (43 - 65)	53 - 67 (49 - 69)	54 - 68 (50 - 71)	1 - 9 (0 - 10)
<b>ECA-test</b>	68 - 100 (67 - 125)	60 - 92 (57 - 105)	45 - 58 (41 - 60)	54 - 66 (49 - 67)	58 - 70 (55 - 70)	61 - 72 (58 - 72)	0 - 1 (0 - 1)

**Disclaimer:** Reference ranges have been determined for EX-, FIB-, AP-, IN- and HI-test analysing a reference cohort (n=60, 32 female, 28 male, age 20-72, average age 38.8 years) and for RVV- and ECA-test (n=60, 34 female, 26 male, age 20-72, average age 39.0 years) with no signs of impaired coagulation. Deviations from the reference range do not necessarily reflect a coagulopathy or a prothrombotic state, but may be expected in individuals of the respective age group, persons undergoing surgery or experiencing an acute phase reaction.

Please note that reference ranges depend on the respective reference population, the blood sampling technique and other pre-analytical factors. It is recommended to locally confirm reference ranges.

**Caution:** MCF value: If the measurement is stopped while the curve is still rising, then this parameter only represents the highest amplitude reached at this point in time.

**Note:** Numbers represent the 95% central interval. Numbers in brackets () represent the range from minimum to maximum values in the reference cohort.

## **10 Danksagung**

An erster Stelle gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. Simon Schäfer für die Überlassung des Themas und seiner hervorragenden wissenschaftlichen wie auch persönlichen Unterstützung bei der Ausarbeitung dieser Dissertation.

Ebenso danke ich dem Mitbetreuer PD Dr. Philipp Groene. Seine Unterstützung und Geduld halfen mir bei der Durchführung der Studie und beim Schreiben dieser Arbeit.

Ebenfalls bedanken möchte ich mich für die Unterstützung bei der Laborarbeit durch Marion Hörl und Katharina Biere sowie bei den Mitarbeitern des hämostaseologischen Labors des Klinikums der Universität München und insbesondere bei Frau Dr. Pauli.

Besonders möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken, die mich stets – nicht nur während des Zeitraumes der Dissertation – sondern durch meine gesamte Ausbildung begleitet, motiviert und unterstützt haben.

## 11 Eidesstattliche Versicherung

Wagner, Daniela Maria

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema  
„Detektion direkter oraler Antikoagulanzen mittels Point-of-Care Diagnostik  
(ClotPro®)“

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 19.12.2022

Ort, Datum

Daniela Wagner

Unterschrift