

Aus der Klinik für Anästhesiologie
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. Zwißler

**Monitoring und Antagonisierung des Faktor Xa-Inhibitors
Rivaroxaban**

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

vorgelegt von

Lena Heimbach

aus Filderstadt

2022

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Bernhard Heindl

Mitberichterstatter: PD Dr. Tobias Petzold

Mitbetreuung durch die
promovierte Mitarbeiterin: Dr. med. Susanne Lison

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 27.05.2022

Für Leopold, Julius und Anton

Abkürzungsverzeichnis

ACS	akutes Koronarsyndrom
aPTT-SP	aktivierte partielle Thromboplastinzeit mit HemosIL®-Reagenz
aPTT-SS	aktivierte partielle Thromboplastinzeit mit SynthASil®-Reagenz
ANOVA	oneway Analysis of Variance
aPTT	aktivierte partielle Thromboplastinzeit
ASS	Acetylsalicylsäure
CaCl ₂	Kalziumchlorid
COPD	chronisch obstruktive Lungenerkrankung
d	Tag/Tage
DMSO	Dimethylsulfoxid (CH ₃) ₂ SO
DOAK	direkte orale Antikoagulanzen
EXTEM®	Rotationsthrombelastometrie mit extrinsischer Aktivierung
Feiba®	aktiviertes Prothrombinkonzentrat
FFP	fresh frozen plasma
FV(a)	Faktor V (aktiviert)
FVII(a)	Faktor VII (aktiviert)
FVIII(a)	Faktor VIII (aktiviert)
FX(a)	Faktor X (aktiviert)
HIT	heparininduzierte Thrombozytopenie
INTEM	Rotationsthrombelastometrie mit intrinsischer Aktivierung
KG	Körpergewicht

KHK	koronare Herzerkrankung
LAE	Lungenarterienembolie
µl	Mikroliter
NaCl	Natriumchlorid
NSTEMI	Myokardinfarkt ohne ST-Strecken-Hebung
NYHA	Schema zur Einteilung der Herzinsuffizienz in Stadien nach der New York Heart Association
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
pH	potentia hydrogenii, pH-Wert als Maß für die saure oder alkalische Reaktion einer wässrigen Lösung
PPSB	Prothrombinkomplexpräparat
PT	Prothrombinzeit (Quickwert)
R	Spearman-Korrelationskoeffizient
rFVIIa	rekombinanter Faktor VIIa
ROTEM®	Rotationsthrombelastometrie
sec	Sekunden
STEMI	Myokardinfarkt mit ST-Strecken-Hebung
TDT	Thrombin dynamics test
TDTex	Thrombin dynamics test mit extrinsischer Aktivierung
TDTin	Thrombin dynamics test mit intrinsischer Aktivierung
TF	Tissue factor
tPA	Tissue-Typ-Plasminogenaktivator
TVT	tiefe Venenthrombose

UE	untere Extremität
uPA	Urokinase-Typ-Plasminogenaktivator
VKA	Vitamin-K-Antagonisten
VTE	venöse Thromboembolie
vWF	von-Willebrand-Faktor
WS	Wirbelsäule
ZVK	zentraler Venenkatheter

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	10
1.1 Das hämostatische System	10
1.1.1 Die primäre Hämostase	11
1.1.2 Die sekundäre (plasmatische) Hämostase	12
1.1.3 Antithrombotische Mechanismen	13
1.1.4 Fibrinolyse	13
1.2 Medikamentöse Herabsetzung der Gerinnungsfähigkeit	14
1.2.1 Heparin	14
1.2.2 Vitamin-K-Antagonisten	15
1.3 Direkte orale Antikoagulanzen	15
1.3.1 Rivaroxaban (Xarelto®)	17
1.4 Indikationen zur blutverdünnenden Therapie	19
1.4.1 Venöse Thromboembolie (VTE)	20
1.4.2 Vorhofflimmern	23
1.4.3 Akutes Koronarsyndrom	23
1.4.4 Koronare Herzerkrankung und periphere arterielle Verschlusskrankheit	24
1.5 Laborchemisches Monitoring von Rivaroxaban	25
1.6 Globalgerinnungstests	25
1.7 Spezielle Testmethoden	26
1.7.1 Thrombin dynamics test	26
1.7.2 Rotationsthrombelastometrie (ROTEM®)	28
1.7.3 Anti-Faktor Xa-Aktivität	30
1.8 Antagonisierung von Rivaroxaban	32
1.8.1 Prothrombinkomplexpräparat	32

1.8.2 Aktiviertes Prothrombinkonzentrat	33
1.8.3 Rekombinanter Faktor VIIa.....	33
1.8.4 Faktor X und Andexanet alfa (AndexXa®)	33
2 Zielsetzung.....	35
3 Material und Methoden	36
3.1 Probengewinnung	36
3.2 Probenverarbeitung	36
3.3 Vorarbeiten und Festlegungen	37
3.3.1 Einfluss von DMSO	37
3.3.2 Versuche mit NaCl	38
3.4 Hauptversuche	38
3.5 Antikoagulanzen.....	38
3.5.1 Rivaroxaban.....	38
3.6 Faktorenkonzentrate	39
3.6.1 Prothrombinkomplexpräparat (PPSB).....	40
3.6.2 aktiviertes Prothrombinkonzentrat (Feiba®).....	41
3.6.3 rekombinanter Faktor VIIa (rFVIIa, Novo Seven®).....	42
3.6.4 Faktor X Präparat.....	42
3.7 Reagenzien und Testdurchführung	43
3.7.1 Globalgerinnungstests	43
3.7.1.1 Quickwert	43
3.7.1.2 Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT).....	44
3.7.2 Spezielle Testmethoden.....	44
3.7.2.1 Thrombin dynamics test (TDT).....	44
3.7.2.2 Rotationsthrombelastometrie (ROTEM®).....	45
3.7.2.3 Anti-Faktor Xa-Aktivität (STA® Liquid Anti-Xa).....	45

3.8 Statistische Auswertung	46
4 Ergebnisse	48
4.1 Quickwert	48
4.2 Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT)	54
4.3 Thrombin dynamics test	59
4.4 Rotationsthrombelastometrie (ROTEM®)	63
4.5 Anti-Faktor Xa-Aktivität	66
5 Diskussion	67
5.1 Laborchemisches Monitoring von Rivaroxaban	68
5.2 Antagonisierung	71
6 Zusammenfassung	77
7 Literaturverzeichnis	79
8 Anhang	96
8.1 Abbildungsverzeichnis	96
8.2 Tabellenverzeichnis	100
8.3 Nebenversuche	101
8.3.1 Versuche mit NaCl	101
8.3.2 Einfluss von DMSO	102
9 Danksagung	104

1 Einleitung

1.1 Das hämostatische System

Die normale Hämostase findet sich in einer fein abgestimmten Balance als koordiniertes Zusammenspiel von Enzymen des plasmatischen Gerinnungssystems, Proenzymen, Kofaktoren, Inhibitoren sowie Zellen des Blutes und der Gefäßwand [1].

Man unterscheidet die primäre und die sekundäre Hämostase [2]. Die früher gebräuchliche Unterscheidung der intrinsischen und extrinsischen Gerinnung sowie der gemeinsamen Endstrecke beider Systeme spiegelt nicht die in-vivo-Verhältnisse wieder [3], sondern stellt den Ablauf der plasmatischen Gerinnung nach artifizierlicher Aktivierung unter Laborbedingungen dar [2]. Um zu verstehen, welche Komponenten der Gerinnung die einzelnen Gerinnungstests erfassen, ist die Kenntnis dieses Modells jedoch wichtig (siehe Abbildung 1.1)

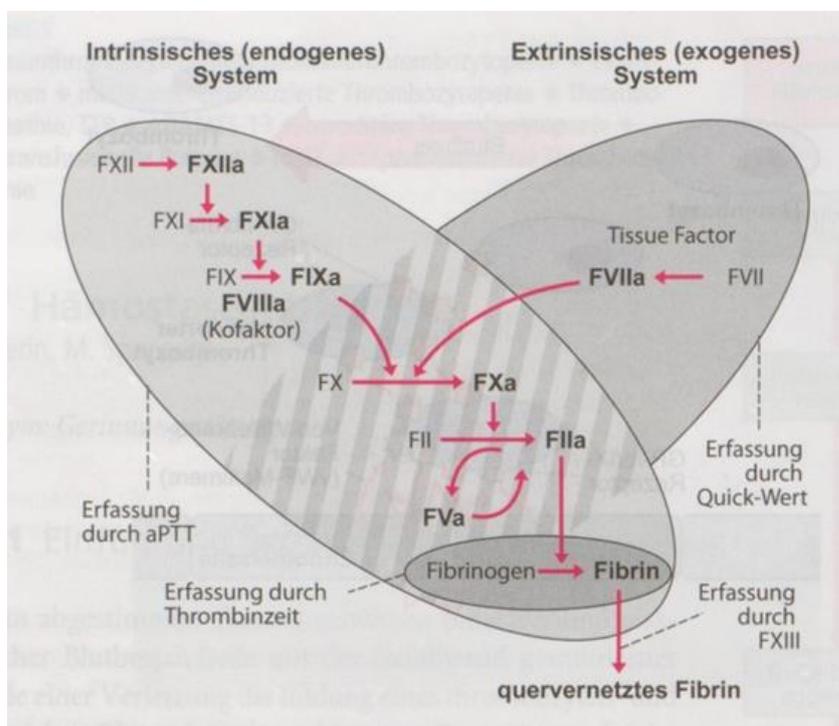


Abbildung 1.1 Intrinsisches und extrinsisches System und zugehörige Gerinnungstests

Aus: Classen, Innere Medizin, 6. Auflage 2009 © Elsevier GmbH, Urban & Fischer, München

1.1.1 Die primäre Hämostase

Wird die Gefäßwand verletzt, heften sich zirkulierende Thrombozyten am Ort der Endothelzellschädigung an das subendotheliale Bindegewebe [4]. Diese sogenannte Thrombozytenadhäsion wird hauptsächlich durch den von-Willebrand-Faktor (vWF) vermittelt [5].

Die Thrombozytenadhäsion führt zur nachfolgenden Thrombozytenaktivierung und -aggregation [6]. Aktivierte Thrombozyten setzen ihrerseits plättchenstimulierende Inhaltsstoffe frei und aktivieren und rekrutieren so weitere Thrombozyten [5].

Außerdem wird auf der Thrombozytenoberfläche der Plättchen-Glykoprotein(Gp)-IIb/IIIa-Komplex aktiviert und bindet Fibrinogen, wodurch sich rasch ein Thrombozytenaggregat bildet [7]. Eine schematische Darstellung der Thrombozytenaggregation liefert Abbildung 1.2.

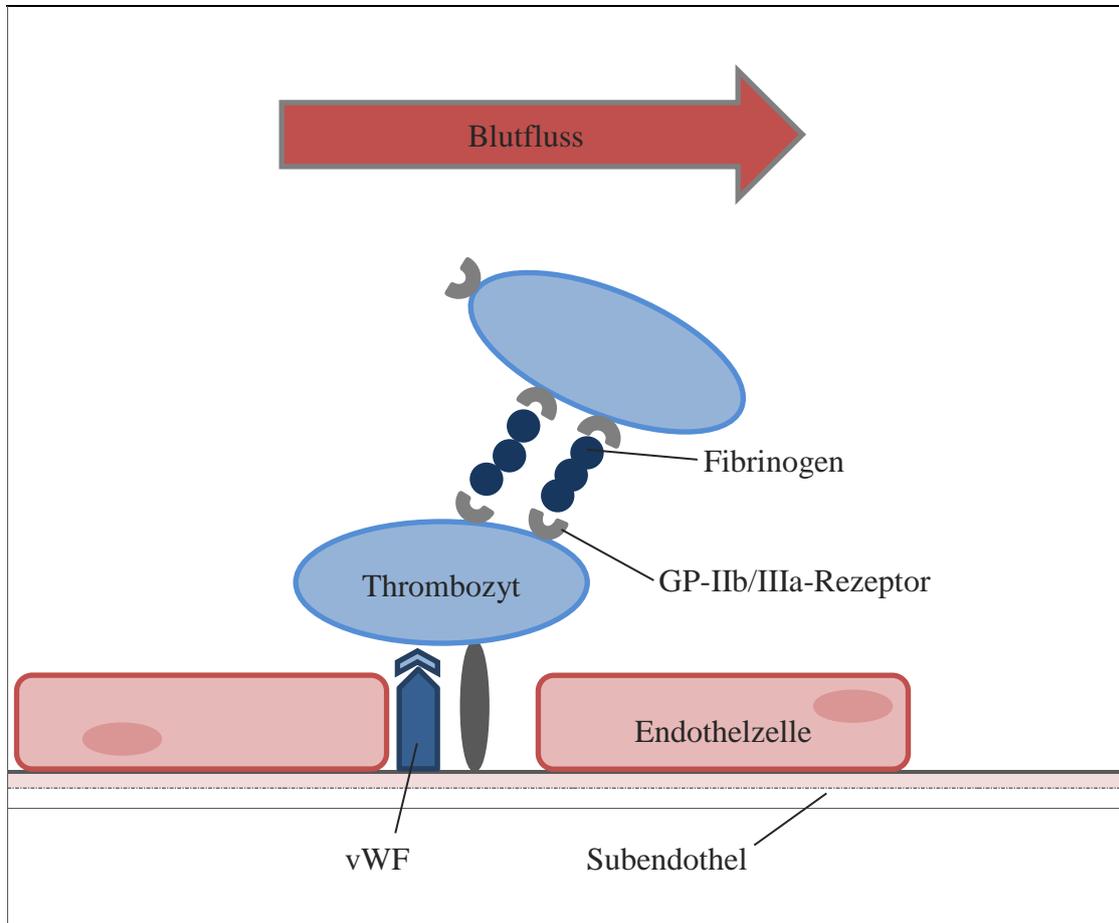


Abbildung 1.2 Stark vereinfachtes Schema der primären Hämostase. Wird die Gefäßwand verletzt, heften sich im Blut zirkulierende Thrombozyten direkt oder mithilfe von vWF an das exponierte subendotheliale Bindegewebe. Auf der Thrombozytenoberfläche wird der GP-IIb/IIIa-Komplex aktiviert und bindet Fibrinogen, wodurch ein Thrombozytenaggregat entsteht.

vWF = von-Willebrand-Faktor; GP-IIb/IIIa-Komplex = Glykoprotein-IIb/IIIa-Komplex

1.1.2 Die sekundäre (plasmatische) Hämostase

Plasmatische Gerinnungsfaktoren zirkulieren im Plasma normalerweise als inaktive Proteine [7]. Wird bei einem Endotheldefekt subendothelial lokalisierter Tissue factor (TF) exponiert, wird die plasmatische Gerinnung aktiviert [2]. Tissue factor bindet daraufhin im Blut zirkulierenden aktivierten Faktor VII (Faktor VIIa) und bildet so den Tissue factor-Faktor VIIa-Komplex, welcher wiederum Faktor IX und Faktor X aktiviert [8, 9]. Der aktivierte Faktor IX aktiviert mit Faktor VIIIa als Kofaktor ebenfalls Faktor X. Aktivierter Faktor X (Faktor Xa) generiert daraufhin aus Prothrombin kleine

Mengen Thrombin [4], welches die zentrale Protease der plasmatischen Gerinnung ist [7].

Durch eine zusätzliche Generierung von Faktor Xa durch einen Komplex aus Faktor IXa, Faktor VIIIa, Ca²⁺ und Phospholipiden, wird die Gerinnungskaskade nochmals verstärkt [8]. Faktor Xa wird zusammen mit Faktor Va, Phospholipiden und Ca²⁺ im sogenannten Prothrombinasekomplex gebunden [6, 10] und wandelt so als zentraler Thrombinaktivator Prothrombin in Thrombin um [11].

Thrombin wandelt nun lösliches Fibrinogen in Fibrin um und aktiviert die Faktoren V, VIII und XI, wodurch noch mehr Thrombin gebildet wird (sog. „Thrombin burst“ [12]) [1]. Außerdem stimuliert Thrombin die Thrombozytenaggregation und -sekretion [13]. Faktor XIII (fibrinstabilisierender Faktor) wird durch Thrombin aktiviert und führt dann durch die Quervernetzung der Fibrinmonomere zu einer Stabilisierung des Fibrinthrombus [7].

1.1.3 Antithrombotische Mechanismen

Um eine überschießende Gerinnselformung und damit das Risiko thrombotischer Ereignisse und Gefäßverschlüsse zu verhindern, wirken mehrere antithrombotische Mechanismen zusammen [7]:

Antithrombin (auch ATIII, Antithrombin III) wird in der Leber gebildet und inhibiert durch Komplexbildung vor allem Faktor Xa und Thrombin [14]. In deutlich geringerem Maße inhibiert Antithrombin daneben auch Faktor IXa, Faktor XIa und Faktor XIIa [14, 15].

Protein C wird von Thrombin aktiviert und inaktiviert unter Mitwirkung des Kofaktors Protein S die Faktoren Va und VIIIa [5].

Tissue factor Pathway Inhibitor (TFPI) inhibiert den Tissue factor-Faktor VIIa-Faktor Xa-Komplex und somit die Tissue factor/Faktor VIIa-vermittelte Gerinnungsaktivierung [7].

1.1.4 Fibrinolyse

Die Hauptfunktion des fibrinolytischen Systems ist es, Fibringerinnsel aufzulösen und so die Gefäßdurchgängigkeit zu erhalten bzw. wiederherzustellen [5]. Das zentrale En-

zym des fibrinolytischen Systems ist Plasmin [2]. Sogenannte Plasminogenaktivatoren wie Tissue-Typ-Plasminogenaktivator (tPA) und Urokinase-Typ-Plasminogenaktivator (uPA) spalten Plasminogen und setzen so das aktive Enzym Plasmin frei [5, 7]. Dieses wiederum baut dann Fibrin zu Fibrinspaltprodukten (u.a. D-Dimere) ab [2].

Die wichtigsten Inhibitoren der Fibrinolyse sind das Plasmin hemmende Antiplasmin, sowie die Plasminogenaktivator-Inhibitoren, welche bevorzugt tPA und uPA hemmen [7].

1.2 Medikamentöse Herabsetzung der Gerinnungsfähigkeit

1.2.1 Heparin

Heparin ist eine körpereigene Substanz, die in hoher Konzentration in Gewebsmastzellen enthalten ist [16]. Für therapeutische Zwecke wird sie aus der Mukosa von Schweinedarm gewonnen [16]. Heparine sind indirekte Hemmstoffe der Blutgerinnung, da ihr antithrombotischer Effekt hauptsächlich durch die Aktivierung von Antithrombin begründet wird [17].

Unfraktioniertes Heparin (UFH) ist ein heterogenes Gemisch aus Glykosaminoglykanen unterschiedlicher Länge, von denen ca. ein Drittel antikoagulatorische Eigenschaften aufweist [18, 19]. Die gerinnungshemmende Wirkung von Heparin beruht hauptsächlich auf der Aktivierung von Antithrombin III, welches dann u.a. die aktivierten Gerinnungsfaktoren Xa und IIa (Thrombin) inaktiviert [16].

Inzwischen werden niedermolekulare Heparine (NMH) deutlich häufiger eingesetzt als unfraktioniertes Heparin [20]. Sie weisen im Vergleich zu UFH verschiedene Vorteile wie eine vorhersagbare antikoagulatorische Wirkung [19], eine bessere Bioverfügbarkeit [21], längere Halbwertszeit [17], ein geringeres Blutungsrisiko auf, sowie deutlich weniger unerwünschte Wirkungen [19].

Trotzdem bergen alle Heparine das Risiko einer potenziell lebensbedrohlichen heparin-induzierten Thrombozytopenie (HIT) Typ II [22]. In der Langzeitanwendung kann es außerdem, insbesondere unter der Therapie mit unfraktioniertem Heparin, zu Nebenwirkungen wie Osteoporose [18] und Alopezie [23] kommen. Der Einsatz von Heparin-

nen wird jedoch in erster Linie aufgrund der Notwendigkeit einer parenteralen Substitution [17] und der therapeutischen Breite [24] stark limitiert.

1.2.2 Vitamin-K-Antagonisten

Vitamin-K-Antagonisten (VKA) gehören zu den am häufigsten verschriebenen Medikamenten in Deutschland [25]. Bis vor einigen Jahren waren Vitamin-K-Antagonisten die einzigen verfügbaren oralen Antikoagulanzen [17]. Ebenso wie die ausschließlich parenteral verabreichten Antikoagulanzen UFH und NMH, wirken VKA nicht gezielt, sondern inhibieren mehr als ein Enzym in der Gerinnungskaskade [26]. Durch die Antagonisierung von Vitamin K hemmen sie die γ -Carboxylierung der Gerinnungsfaktoren II, VII, IX und X, sowie von Protein C und Protein S [27]. Die Vitamin K abhängigen Gerinnungsfaktoren II, VII, IX und X benötigen die γ -Carboxylierung jedoch, um ihre prokoagulatorische Wirkung zu entfalten [28]. So resultiert die Behandlung mit VKA in einer hepatischen Produktion von teilweise carboxylierten, teilweise decarboxylierten Enzymen mit herabgesetzter prokoagulatorischer Aktivität [29].

Obwohl die Antikoagulation mit VKA unter optimalen Bedingungen sehr wirksam ist [30], stellt ihr Einsatz im klinischen Alltag oft eine Herausforderung dar [28, 30]: Sie haben eine geringe therapeutische Breite [17, 26, 28] und weisen erhebliche interindividuelle und intraindividuelle Schwankungen der Dosis-Wirkungs-Beziehung auf [31, 32]. Vitamin-K-Antagonisten haben außerdem zahlreiche Interaktionen mit anderen Medikamenten und Nahrungsmitteln [17, 31] und weisen darüber hinaus eine lange Halbwertszeit, sowie eine lange Latenzzeit bis zur vollen Wirksamkeit auf [17]. Außerdem spielt die Beeinflussung der antikoagulatorischen Wirkung durch Faktoren wie Alter [33], Geschlecht [34] und Körpergewicht [35] ebenfalls eine Rolle. Deshalb ist bei Patienten, die mit Vitamin-K-Antagonisten therapiert werden, eine regelmäßige Überwachung der Blutgerinnung unumgänglich [17, 30].

1.3 Direkte orale Antikoagulanzen

In den letzten Jahren wurden einige direkte orale Antikoagulanzen (DOAK) entwickelt, die gegenüber Heparinen und Vitamin-K-Antagonisten einige Vorteile bieten [36]. Zu den direkten oralen Antikoagulanzen gehören die direkten selektiven und reversiblen

Faktor Xa-Inhibitoren Rivaroxaban, Apixaban und Edoxaban [37], sowie der direkte Thrombininhibitor Dabigatran [38]. Alle diese Substanzen haben u.a. den Vorteil einer oralen Substitution und hemmen im Gegensatz zu Vitamin-K-Antagonisten spezifisch und selektiv Schlüsselfaktoren in der Gerinnungskaskade [24, 39]. Außerdem zeichnen sie sich durch vorhersagbare pharmakokinetische Eigenschaften, wie eine große therapeutische Breite und eine nur unerhebliche Beeinflussung durch Nahrungsmittel oder Medikamente aus [24, 36], wodurch keine routinemäßige Überwachung der Blutgerinnung erforderlich ist [40-42].

Abbildung 1.3 zeigt die schematische Darstellung der Blutgerinnungskaskade, sowie die Angriffspunkte neuer Antikoagulanzen.

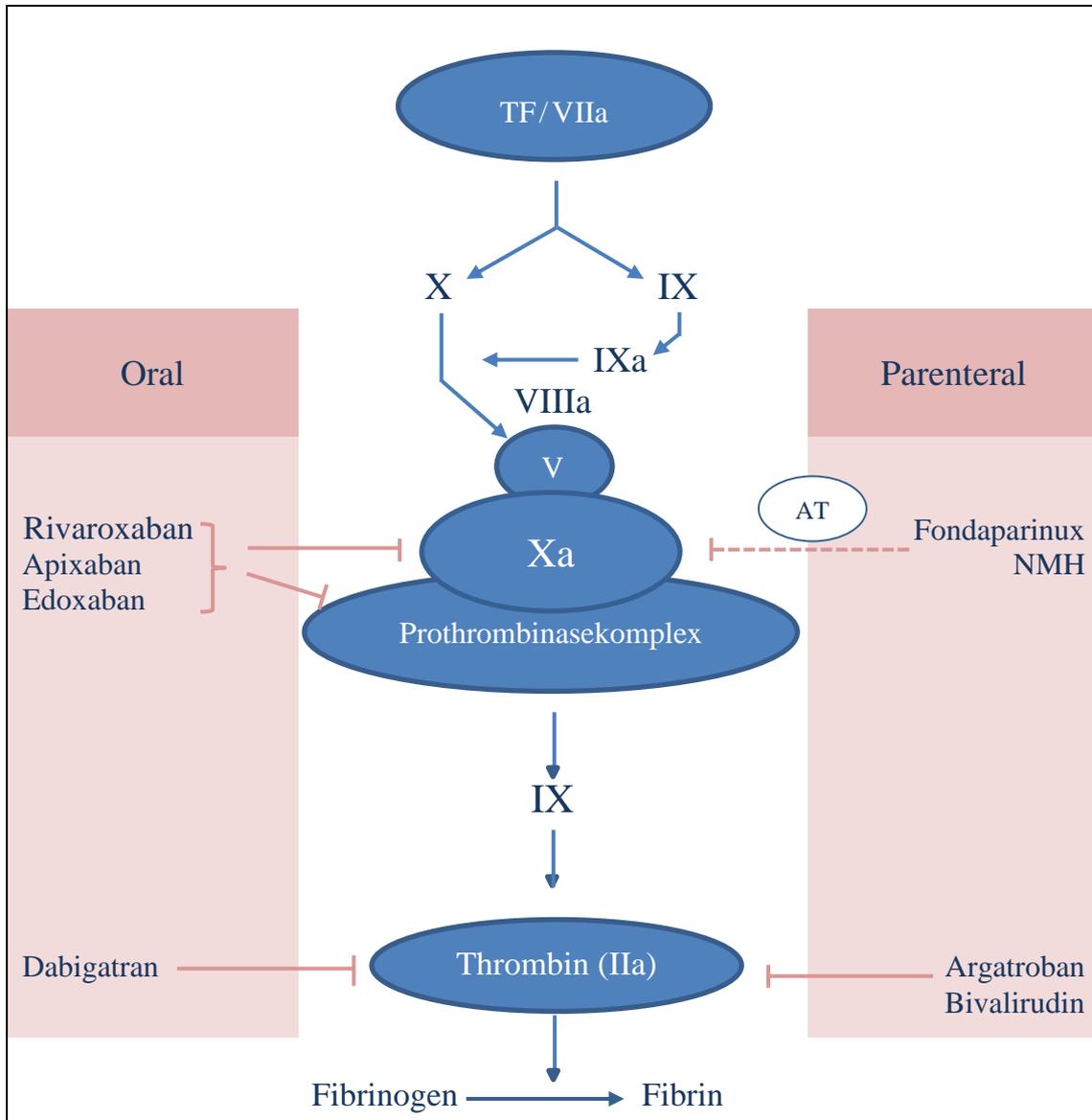


Abbildung 1.3 Angriffspunkte von Antikoagulanzen

Die direkten oralen Antikoagulanzen hemmen direkt Faktor Xa oder Thrombin. Bei den parenteralen Antikoagulanzen Fondaparinux und NMH ist die Hemmung von Faktor Xa Antithrombin abhängig.

AT= Antithrombin; TF= Tissue factor; NMH= niedermolekulares Heparin; II(a)/V/VIII/IX/X(a) = Faktor

II(aktiviert)/V/VIII/IX/X(aktiviert)

modifiziert nach [4, 40]

1.3.1 Rivaroxaban (Xarelto®)

Rivaroxaban (Xarelto®; Bayer HealthCare) ist ein oral verfügbarer, direkter, selektiver und reversibler Inhibitor von Faktor Xa [36]. Es bindet unabhängig von Antithrombin direkt und reversibel an das katalytische Zentrum der Serinprotease Faktor Xa (FXa)

und hemmt diesen sowohl in freier, als auch in Thrombus- und Prothrombinasekomplex gebundener Form [43]. Der Prothrombinasekomplex wird nur von direkten, nicht aber von indirekten Faktor Xa-Inhibitoren gehemmt [44]. Dies ist von besonderer Relevanz, da der Prothrombinasekomplex die Reaktionsgeschwindigkeit der Thrombinbildung im Vergleich zu freiem FXa um den Faktor 3×10^5 erhöht [6].

Es hat sich gezeigt, dass Faktor Xa ein besonders vielversprechender Angriffspunkt für eine wirksame Antikoagulation ist, da er ein Schlüsselenzym der plasmatischen Gerinnung ist [44]. Er katalysiert u.a. die Umwandlung von Prothrombin zu Thrombin, wobei ein Molekül Faktor Xa mehr als 1000 Thrombinmoleküle generiert [26, 45]. Thrombin wiederum führt zu Gerinnselbildung und Wundverschluss [45, 46]. Eine effektive Hemmung von Thrombin erfordert also aufgrund der teilweise sehr hohen Thrombinkonzentrationen im Plasma eine anhaltend hohe Konzentration an freiem Antikoagulant. Da Faktor Xa auch während des Ablaufs der Hämostase in deutlich niedrigeren Konzentrationen im Plasma enthalten ist [47], gilt dies für Inhibitoren von Faktor Xa nicht [48].

Durch die selektive Hemmung von Faktor Xa kann der antithrombotische Effekt also durch die Verminderung der Thrombingenerierung erreicht werden, was zu einer herabgesetzten thrombinvermittelten Aktivierung der plasmatischen Gerinnung führt [49]. Trotz signifikanter Hemmung der Thrombingenerierung beeinträchtigt Rivaroxaban die für die Thrombozytenaktivierung nötige initiale Entstehung von Thrombin nicht [49], weshalb auch unter antithrombotischen Dosierungen keine signifikante Zunahme der Blutungszeit beobachtet wurde [44, 50].

Rivaroxaban weist eine Bioverfügbarkeit von nahezu 80% auf, die maximale Plasmakonzentration wird bereits nach 2 bis 4 Stunden erreicht und die Eliminationshalbwertszeit ist mit 7 bis 11 Stunden vergleichsweise kurz [51]. Die Beeinflussung des Rivaroxabanspiegels durch Nahrungsmittel oder Medikamente ist nur unerheblich und die therapeutische Breite ist groß [24, 42]. Außerdem ist die orale Substitution und das weitgehende Wegfallen einer routinemäßigen Überwachung der Blutgerinnung im ambulanten Setting sehr patientenfreundlich [40-42].

Rivaroxaban wurde 2008 für die Prophylaxe venöser Thromboembolien nach elektivem Hüft- und Kniegelenkersatz zugelassen [52]. Seitdem wurde die Gabe von Rivaroxaban

für weitere Anwendungsgebiete genehmigt. Eine Übersicht über Zulassungsjahr, Indikationen und die jeweiligen Dosierungen liefert Tabelle 1.1.

Tabelle 1.1 Zusammenfassung von Indikationen, Dosierungen und Zulassungsjahr von Rivaroxaban [52-59]

VTE=venöse Thromboembolie; TVT=tiefe Venenthrombose; LAE=Lungenarterienembolie; ACS=akutes Koronarsyndrom; pAVK=periphere arterielle Verschlusskrankheit; ASS=Acetylsalicylsäure

Indikation	Dosierung	Zulassung seit
Prophylaxe VTE bei Patienten nach elektiver Hüft- oder Kniegelenkersatzoperation	10 mg 1 x tägl.	2008
Therapie von TVT oder LAE sowie Prophylaxe von deren Rezidiven	15 mg 2 x tägl. für 21 Tage dann 20 mg 1 x tägl.	2011
Prophylaxe von Schlaganfällen und systemischen Embolien bei Patienten mit nicht valvulärem Vorhofflimmern	20 mg 1 x tägl.	2011
Prophylaxe atherothrombotischer Ereignisse bei Patienten nach einem ACS mit erhöhten kardialen Biomarkern	2,5 mg 2 x tägl. kombiniert mit ASS oder ASS und Clopidogrel oder Ticlopidin	2013
Prophylaxe atherothrombotischer Ereignisse bei Patienten mit KHK oder symptomatischer pAVK	2,5 mg 2 x tägl. kombiniert mit ASS	2018

1.4 Indikationen zur blutverdünnenden Therapie

Die Hämostase ist ein fein ausbalanciertes System, das sich in einem natürlichen Gleichgewicht zwischen prothrombotischen und antithrombotischen Effekten befindet [7]. Dieses Gleichgewicht kann aus unterschiedlichsten Gründen gestört werden. Allein in Mitteleuropa erhalten gut 12 % der Bevölkerung blutverdünnende Medikamente [60]. Die Indikationen zur oralen Antikoagulation sind vielfältig [56].

Im Folgenden wird insbesondere auf die für eine Behandlung mit Rivaroxaban zugelassenen Indikationen zur blutverdünnenden Therapie eingegangen, da diese für diese Arbeit von besonderer Relevanz sind.

1.4.1 Venöse Thromboembolie (VTE)

Kommt es durch die Verschleppung eines Thrombus zu einem akuten arteriellen oder venösen Gefäßverschluss, spricht man von einer Thromboembolie [61].

Venöse Thromboembolien manifestieren sich als tiefe Venenthrombose (TVT) und Lungenarterienembolie (LAE) [62]. Die jährliche Inzidenz venöser Thromboembolien (VTE) in Europa beträgt 183 Fälle pro 100 000 Einwohner [63]. Die Häufigkeit tiefer Beinvenenthrombosen in der operativen und konservativen Medizin ohne Prophylaxe ist in Tabelle 1.2 dargestellt. Es gibt unzählige Risikofaktoren für venöse oder arterielle Thromboembolien. Eine Übersicht über die häufigsten Risikofaktoren für venöse Thromboembolien liefert Abbildung 1.4.

Tabelle 1.2 Häufigkeiten tiefer Beinvenenthrombosen (Gesamtraten symptomatischer und asymptomatischer) in der operativen und konservativen Medizin ohne Prophylaxe (AWMF S3-Leitlinie Prophylaxe der venösen Thromboembolie (VTE), 2015) [64]

Patientengruppe	Prävalenz von TVT ohne Prophylaxe
Innere Medizin	10 bis 20 %
Allgemeinchirurgie	15 bis 40 %
Große gynäkologische Eingriffe	15 bis 40 %
Große urologische Eingriffe	15 bis 40 %
Neurochirurgie	15 bis 40 %
Schlaganfall	20 bis 50 %
Hüft- oder Kniegelenkersatz	40 bis 60 %
Hüftfrakturen	40 bis 60 %
Multiples Trauma	40 bis 60 %
Rückenmarkverletzung	60 bis 80 %
Intensivmedizin	10 bis 80 %

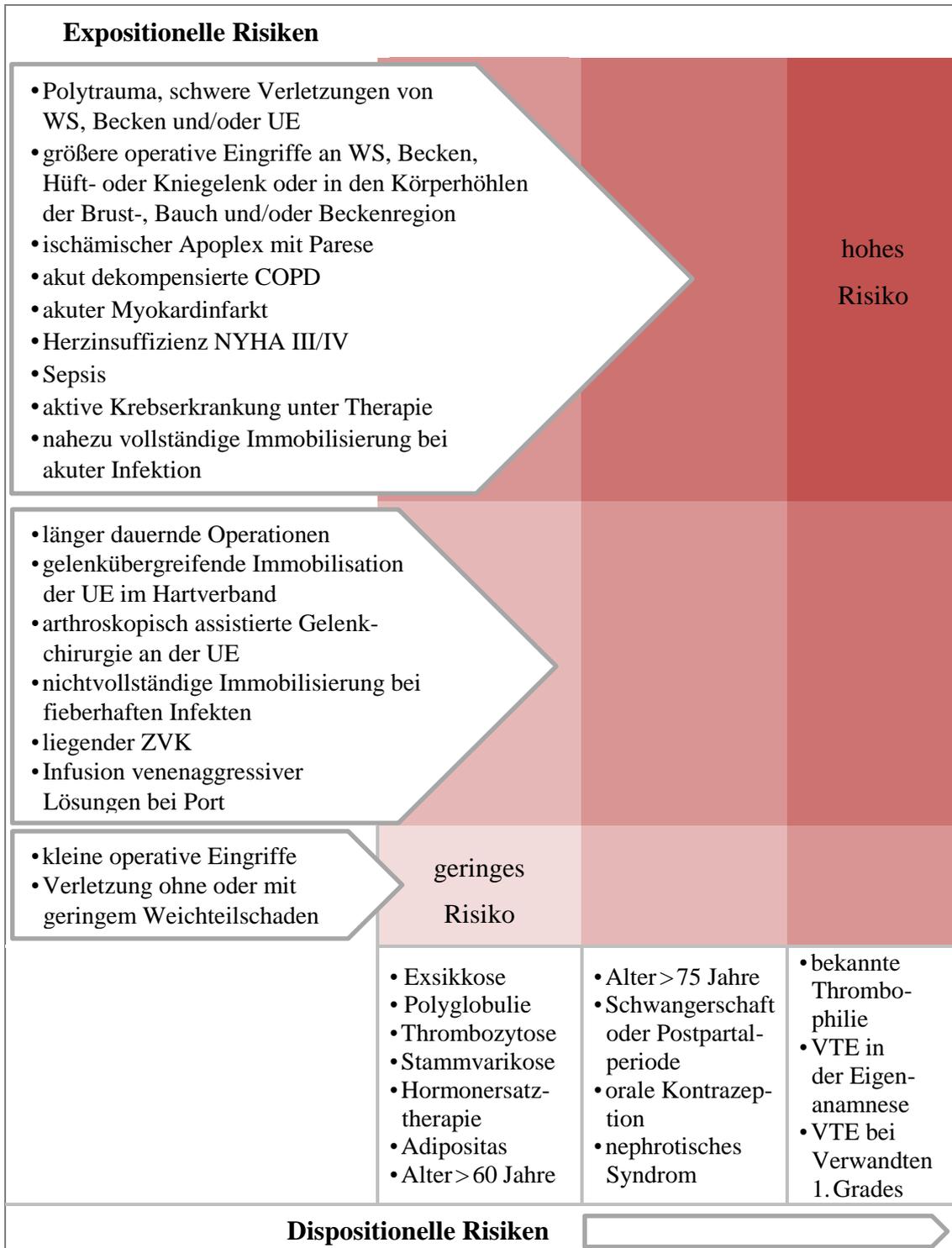


Abbildung 1.4 Risikofaktoren für eine venöse Thromboembolie

Einteilung nach expositionellen Risiken (Akutrisiken) und dispositionellen Risiken (Basisrisiken) in Anlehnung an [65] (Moerchel et al. 2007) [62, 66-69]. WS = Wirbelsäule, UE = untere Extremität, COPD = chronisch obstruktive Lungenerkrankung, NYHA = Schema zur Einteilung der Herzinsuffizienz in Stadien nach der New York Heart Association, UE = untere Extremität, ZVK = zentraler Venenkatheter, VTE = venöse Thromboembolie

Die Wirksamkeit von Rivaroxaban für die Prophylaxe venöser Thromboembolien wurde in mehreren Studien getestet. Es zeigte sich eine Überlegenheit von Rivaroxaban gegenüber Enoxaparin zur Prophylaxe venöser Thromboembolien bei Patienten nach elektiver Hüft- oder Kniegelenkersatzoperation [70-72]. Auch in der Therapie tiefer Venenthrombosen und Lungenarterienembolien sowie der Prophylaxe von deren Rezidiven zeigte sich Rivaroxaban überlegen gegenüber Enoxaparin und Vitamin-K-Antagonisten [73-76].

1.4.2 Vorhofflimmern

Vorhofflimmern ist der Hauptrisikofaktor für eine arterielle Thromboembolie [77]. Die Prävalenz des Vorhofflimmerns in der Bevölkerung wird auf ca. 2% geschätzt [78]. Unter den 80-89-jährigen leiden bereits 9% an Vorhofflimmern [79]. Patienten mit Vorhofflimmern haben wiederum ein fünffach erhöhtes Risiko, einen Schlaganfall zu erleiden [63].

Die Verfügbarkeit von direkten oralen Antikoagulanzen hat die Prophylaxe von Schlaganfällen bei Patienten mit nicht valvulärem Vorhofflimmern grundlegend verändert [80]. Eine Metaanalyse randomisierter kontrollierter Studien von Ruff et al. [81] hat gezeigt, dass direkte orale Antikoagulanzen im Vergleich zu Vitamin-K-Antagonisten ein besseres Nutzen-Risiko-Profil in der Therapie von Vorhofflimmern aufweisen. Dies zeigte sich in einer signifikanten Reduktion von Schlaganfällen, intrakraniellen Blutungen und Todesfällen unter den direkten oralen Antikoagulanzen. Das Risiko von großen Blutungskomplikationen war mit dem unter Vitamin-K-Antagonisten vergleichbar, während unter den direkten oralen Antikoagulanzen das Risiko einer gastrointestinalen Blutung leicht erhöht war.

1.4.3 Akutes Koronarsyndrom

Seit dem Jahr 2013 ist Rivaroxaban in Europa zur Prophylaxe atherothrombotischer Ereignisse bei Patienten nach einem akuten Koronarsyndrom mit erhöhten kardialen Biomarkern zugelassen [82]. Das akute Koronarsyndrom (ACS) beschreibt die Phasen der koronaren Herzerkrankung, die akut lebensbedrohlich sind [5]. Diese sind die instabile Angina pectoris, sowie der Myokardinfarkt mit oder ohne ST-Strecken-Hebung

(STEMI bzw. NSTEMI) [83]. Die Abgrenzung zwischen instabiler Angina pectoris und Myokardinfarkt erfolgt anhand des kardialen Nekrosemarkers Troponin T [5].

In einer Studie von Mega et al. (ATLAS ACS-2-TIMI 51[84]) reduzierte Rivaroxaban in Kombination mit ASS oder mit ASS und Clopidogrel oder Ticlopidin im Vergleich zu einer dualen Plättchenhemmung aus ASS und Clopidogrel oder Ticlopidin die Zahl der Todesfälle, Herzinfarkte und Schlaganfälle bei Patienten, die nach einem akuten Koronarsyndrom stabilisiert worden waren, signifikant.

Außerdem reduzierte Rivaroxaban die Zahl der Stentthrombosen bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom signifikant [85].

1.4.4 Koronare Herzerkrankung und periphere arterielle Verschlusskrankheit

Seit Juli 2018 ist Rivaroxaban für die Prophylaxe atherothrombotischer Ereignisse bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung oder symptomatischer peripherer arterieller Verschlusskrankheit zugelassen [86].

Die koronare Herzerkrankung (KHK) verursacht mehr Todesfälle und höhere wirtschaftliche Kosten als jede andere Krankheit in der entwickelten Welt [87, 88]. Sie ist definiert als eine chronische Herzerkrankung, die durch eine atherosklerotisch bedingte Verengung der Herzkranzgefäße ausgelöst wird [5].

Der Begriff der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (pAVK) bezeichnet eine klinische Störung, die durch eine Stenose oder einen Verschluss der Becken- oder der Beinarterien verursacht wird [88]. Mehr als 202 Millionen Menschen sind weltweit von pAVK und den damit verbundenen Risiken betroffen [89]. Die 5-Jahres-Mortalität von Patienten mit einer pAVK beträgt 15-30% [88].

In einer randomisierten kontrollierten Studie von Eikelboom et al. (COMPASS, Cardiovascular Outcomes for People using Anticoagulation Strategies[90]) wurde eine Monotherapie ASS 100mg mit einer Monotherapie Rivaroxaban 2 x 2,5mg und einer Kombinationstherapie aus ASS 100mg und Rivaroxaban 2 x 2,5mg verglichen. Es wurden 27397 Patienten mit KHK und/oder pAVK eingeschlossen. Die Kombinationstherapie aus ASS 100mg und 2 x 2,5mg Rivaroxaban führte zu einer signifikanten Reduktion kardiovaskulärer Ereignisse wie kardiovaskulärem Tod, Myokardinfarkt und Schlag-

anfall. Insgesamt kam es in der Gruppe, die Rivaroxaban und ASS einnahm, zu mehr Blutungskomplikationen als bei ASS alleine, wobei die Zahl der tödlichen und intrakraniellen Blutungen in etwa gleich hoch war. Insgesamt konnte die Zahl der Todesfälle durch die zusätzliche Gabe von Rivaroxaban zu ASS signifikant reduziert werden (313 statt 378 Todesfälle). Die Studie wurde aufgrund der deutlichen Überlegenheit der Kombinationstherapie im Vergleich zur Monotherapie mit ASS vorzeitig abgebrochen [91].

Diese Zahlen zeigen, welchen Stellenwert Erkrankungen, die mit blutverdünnenden Medikamenten entweder behandelt werden oder deren Komplikationen dadurch weitgehend verhindert werden können, in unserer älter werdenden Bevölkerung haben.

1.5 Laborchemisches Monitoring von Rivaroxaban

Aufgrund der gut vorhersehbaren pharmakodynamischen und pharmakokinetischen Eigenschaften von Rivaroxaban [92] und des nur geringen Risikos der Akkumulation, sind routinemäßige Laborkontrollen des Plasmaspiegels im ambulanten Setting nicht notwendig [93-95]. Dennoch kann die Bestimmung des Rivaroxabanspiegels in einigen Situationen einen wichtigen Anhaltspunkt für klinische Entscheidungen bieten [96]:

- vor Notfalloperationen und Interventionen [97]
- beim perioperativen Management von Patienten unter Rivaroxaban [98]
- bei Patienten mit Thromboembolien oder Blutungen [99]
- bei vermuteter Überdosierung, Inkompliance oder Einnahme in suizidaler Absicht [100]
- für den Ausschluss einer Akkumulation bei schwerer Nieren- bzw. Leberinsuffizienz [101]

1.6 Globalgerinnungstests

Aktiviert partielle Thromboplastinzeit (aPTT) und Quickwert (Prothrombinzeit, PT) sind die im klinischen Alltag am häufigsten verwendeten Globalgerinnungstests [24]. Das Testprinzip des Quickwertes beruht auf einer Zugabe von Thromboplastin (sog. Tissue factor), Phospholipiden und Calciumchlorid zu Blutplasma. Die Fibrinbildung

wird so induziert und die Zeit bis zur Bildung eines Gerinnsels wird optisch gemessen [98]. Der Quickwert umfasst die Aktivitäten der Gerinnungsfaktoren II (Prothrombin), V, VII, X und Fibrinogen und bildet so die extrinsische Gerinnungskaskade ab [102].

Das Testprinzip der aPTT beruht auf der Zugabe von aPTT-Reagenz (Oberflächenaktivator, Phospholipide und Puffer) zu Zitratplasma, wodurch die Startphase der intrinsischen Gerinnung aktiviert wird [4]. Ausgelöst wird der Ablauf der Gerinnungskaskade durch die anschließende Zugabe von Kalziumionen zur Rekalzifizierung der Probe. Die aPTT beschreibt die Zeit von der Zugabe der Kalziumionen bis zur Gerinnselbildung [98]. Sie umfasst die Aktivitäten der Gerinnungsfaktoren II (Prothrombin), V, VIII, IX, X, XI, XII und Fibrinogen sowie Präkallikrein und hochmolekularem Kininogen und bildet so die intrinsische Gerinnungskaskade ab [98].

In einigen Studien wurde bereits der Einfluss von Rivaroxaban auf Quickwert und aPTT untersucht, die Ergebnisse widersprechen sich jedoch teilweise. So postulieren u.a. Samama et al. [103], dass Rivaroxaban Quickwert und aPTT konzentrationsabhängig erhöht bzw. verlängert [104-106]. Andere Studien kamen wiederum zu der Einschätzung einer nicht linearen Interaktion von Rivaroxaban mit Quickwert und aPTT [41, 102].

Daher ist es wichtig, diese häufig eingesetzten [24] und in der Regel gut verfügbaren Testsysteme hinsichtlich ihrer Aussagekraft auf die Rivaroxaban-Plasmakonzentration weiter zu untersuchen.

1.7 Spezielle Testmethoden

1.7.1 Thrombin dynamics test

Die Thrombingenerierung nimmt eine Schlüsselrolle in der Pathophysiologie der Blutgerinnung ein [107]. Bisher gibt es keinen Routinetest, der die Thrombinbildungskapazität einer Plasmaprobe quantitativ bestimmt. Der im menschlichen Organismus ablaufende Thrombinbildungsprozess ist ausgesprochen komplex und herkömmliche Gerinnungstests wie Quickwert und aPTT spiegeln nicht die gesamte Thrombingenerierung wider und sind außerdem unempfindlich gegenüber hyperkoagulatorischen Zuständen [108]. Die Thrombingenerierung scheint jedoch ein guter Indikator sowohl für hyper-

und hypokoagulatorische Zustände als auch insgesamt für die Funktionalität des Gerinnungssystems zu sein [107].

In den meisten für wissenschaftliche Zwecke verfügbaren Tests zur Messung der Thrombingenerierung wird die Bildung und Hemmung von Thrombin mithilfe eines „langsamen“ Thrombinsubstrates über einen Zeitraum von bis zu einer Stunde bestimmt [109]. Allerdings wird die Thrombinbildung im Körper sehr schnell ausgelöst und wieder gehemmt und Blut steht *in vivo* über so einen langen Zeitraum nie still [110]. Um die tatsächliche *in vivo*-Situation besser abbilden zu können, nutzt der Thrombin dynamics test ein „schnelles“ chromogenes Substrat, welches schnell von Thrombin umgewandelt wird [107] und macht so eine rasche und vollautomatische Quantifizierung der initialen Thrombinbildungsdynamik möglich [110, 111]. Anders als andere Methoden zur Bestimmung der Thrombingenerierung, bildet der TDT nicht die komplette *in vitro*-Reaktion mit Initiationsphase, Thrombinaktivierung, maximaler Akkumulation und Thrombinhemmung ab, sondern konzentriert sich auf die physiologisch wichtige initiale Dynamik der Thrombinbildung [112]. Der TDT mit intrinsischer Aktivierung (TDT_{in}) ist bereits kommerziell verfügbar [107]. Der TDT mit extrinsischer Aktivierung wurde im Rahmen einer Arbeit 2018 entwickelt [113]. Der Ablauf der Gerinnung wird ausgelöst, indem für den TDT mit intrinsischer Aktivierung (TDT_{in}) ein aPTT-Reagenz und für den TDT mit extrinsischer Aktivierung (TDT_{ex}) Recombiplastin als Tissue factor zugegeben wird [113]. Anschließend wird ein Reagenz bestehend aus CaCl₂ zur Rekalzifizierung der Probe, einem Inhibitor der Fibrinpolymerisation, welcher eine ungestörte optische Messung ermöglicht und einem chromogenen Substrat, das schnell von Thrombin gespalten wird zugegeben. Beim Abbau dieses Substrates durch Thrombin wird p-Nitroanilin freigesetzt, dessen Absorption kontinuierlich gemessen wird [114]. Von der so bestimmten Kurve wird die erste Ableitung berechnet. Sie beschreibt die Geschwindigkeit der Umwandlung des chromogenen Substrates und spiegelt somit das Ausmaß der Thrombingenerierung wider [115]. Der Maximalwert der ersten Ableitung (T_{max}) repräsentiert die maximale Geschwindigkeit der Umwandlung des Thrombinsubstrates und folglich die Dynamik der Thrombinbildung [115]. Er wird in Prozent der Norm (Thrombinbildung einer normalen Kontrollpopulation) angegeben [107].

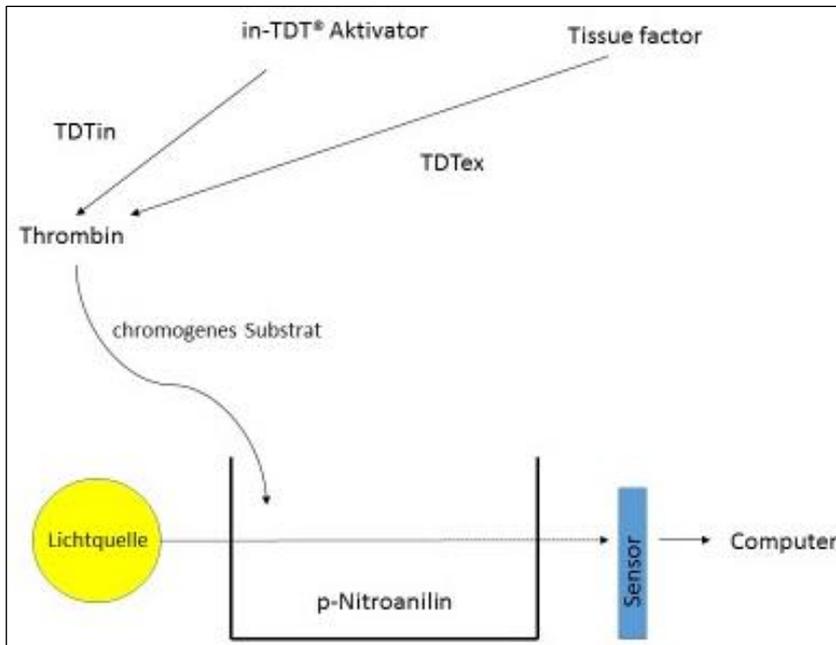


Abbildung 1.5 TDT-Testprinzip. Die intrinsische bzw. extrinsische Gerinnungskaskade wird durch Kontaktaktivator-Reagenz (TDTin) bzw. Tissue factor (TDTex) ausgelöst. Am Ende der jeweiligen Kaskade steht Thrombin, welches das chromogene Substrat spaltet. Das Spaltprodukt p-Nitroanilin wird optisch detektiert und ausgewertet (in Anlehnung an [112, 115]).

In einigen Studien wurde bereits die Korrelation der Rivaroxaban-Plasmakonzentration mit der Thrombingenerierung unter Einsatz eines „langsamen“ Thrombinsubstrates untersucht. Hierbei wurde ein dosisabhängiger Zusammenhang des Rivaroxaban-Plasmaspiegels mit der Thrombingenerierung gezeigt [4, 95, 116, 117]. In unserer Studie untersuchten wir den Einfluss der Rivaroxaban-Plasmakonzentration auf den Thrombin dynamics test, also auf die Thrombingenerierung mithilfe eines „schnellen“ Thrombinsubstrates. Nach unserer Kenntnis gibt es bisher keine Studien hierzu.

1.7.2 Rotationsthrombelastometrie (ROTEM®)

Die Rotationsthrombelastometrie ist ein viskoelastisches Verfahren, mit dem die Gerinnungseigenschaften von Vollblut untersucht werden können [93, 118]. Mit dieser Methode kann die Interaktion von Gerinnungsfaktoren, Inhibitoren und Zellkomponenten gemessen werden [119]. Sie ist eine Weiterentwicklung der traditionellen Thrombelastographie (TEG®)-Methode, die 1948 von Hartert entwickelt wurde [120]. Im Gegensatz zur klassischen Thrombelastographie ist die Rotationsthrombelastometrie prak-

tisch unempfindlich gegenüber Erschütterungen. Bei diesem System wird ein zylindrischer Stempel durch eine elastische Feder in einer Küvette mit Vollblut alternierend bewegt. Bildet sich in der Küvette ein Gerinnsel, wird abhängig von dessen Festigkeit die rotierende Bewegung des Stempels zunehmend eingeschränkt [121] (siehe Abbildung 1.6). Die Bewegungshemmung wird elektronisch erfasst und als Kurve über die Zeit aufgezeichnet [122].

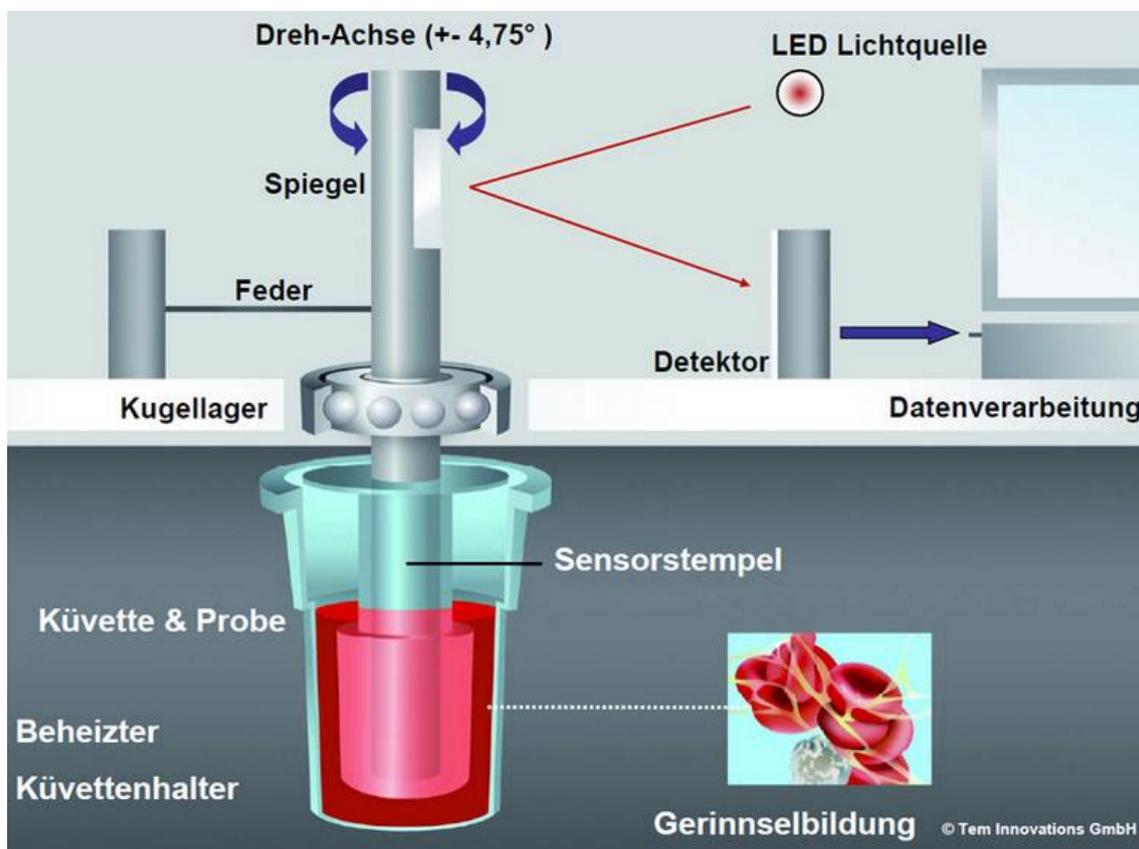


Abbildung 1.6 Prinzip der Thromboelastometrie (ROTEM®)

Bildet sich in der Küvette ein Gerinnsel, wird die rotierende Bewegung des Stempels zunehmend eingeschränkt.

Diese Bewegungshemmung wird elektronisch erfasst und als Kurve über die Zeit aufgezeichnet (Aus: Tem® Innovations GmbH, <https://www.rottem.de/methodik/thromboelastometrie/>, 14.11. 2018)

Dabei wird die gesamte Kinetik der Hämostase untersucht: Gerinnungszeit (clotting time, CT), Gerinnelbildungszeit (clot formation time, CFT), maximale Gerinnselfestigkeit (maximum clot firmness, MCF) und Lyse (Lyse-Index, LI) [119] (siehe Abbildung 1.7). Außerdem können die Messungen mithilfe eines intrinsischen (INTEM®)

oder eines extrinsischen (EXTEM) Aktivators durchgeführt werden. So kann wahlweise die intrinsische oder die extrinsische Blutgerinnung untersucht werden.

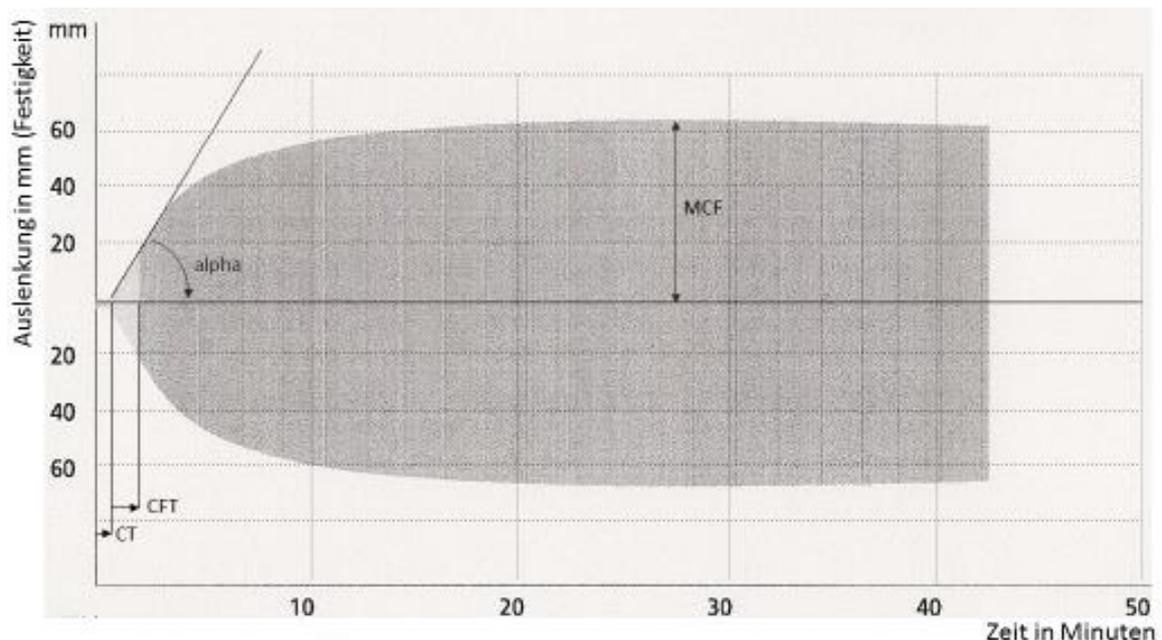


Abbildung 1.7 Exemplarische Darstellung der ROTEM®-Parameter am Beispiel eines EXTEM-Normalbefundes
 CT=Gerinnungszeit (Clotting time), CFT=Gerinnelbildungszeit (Clot formation time), MCF=Maximale Gerinnselfestigkeit (Maximum clot firmness), alpha=Alpha-Winkel

In einigen Studien wurde bereits der Einfluss der Rivaroxaban-Plasmakonzentration auf die Rotationsthrombelastometrie untersucht, wobei insbesondere für die Rotationsthrombelastometrie mit extrinsischer Aktivierung (EXTEM) ein linearer Zusammenhang gezeigt werden konnte [93, 123-125].

1.7.3 Anti-Faktor Xa-Aktivität

Der Rivaroxabanspiegel und die Hemmung von Faktor Xa korrelieren eng miteinander [126]. Deshalb kann die Rivaroxabankonzentration in Plasma mithilfe von Tests, die die Faktor Xa-Aktivität messen, gut quantifiziert werden [127-129]. Die Standard Anti-Xa Assays, die für die Bestimmung von u.a. Heparin verwendet werden, reagieren zu sensitiv auf Rivaroxaban [102, 128]. Werden für diese Tests jedoch Rivaroxabankalibratoren und -kontrollen verwendet, kann die Anti-Xa Aktivität (IE/ml) in ng/ml umgerechnet werden und diese Methode eignet sich für ein breites Anwendungsspektrum von sehr

geringen bis hohen Rivaroxaban-Plasmakonzentrationen (20-660 ng/ml) [130]. Inzwischen sind verschiedene solcher standardisierter Testkits auf dem Markt [96].

Das Testprinzip beruht auf der hemmenden Wirkung von Rivaroxaban auf den Gerinnungsfaktor Xa. Nach der Zugabe von chromogenem Substrat und einem definierten Überschuss Faktor Xa zu Plasma [131], laufen zwei Prozesse parallel ab. Erstens hemmt das vorhandene Rivaroxaban einen Teil des Faktors Xa [98]. Zweitens spaltet der noch freie FXa das chromogene Substrat (an ein chromogenes Peptid gebundenes Para-Nitroanilin (p-NA) ab und die Menge des frei gewordenen Para-Nitroanilins kann anhand dessen optischer Dichte bestimmt werden [129]. Steigende Rivaroxabankonzentrationen inhibieren also konzentrationsabhängig die Aktivität von Faktor Xa auf das chromogene Substrat [131], weshalb die entstehende Farbintensität umgekehrt proportional zur Menge des in der Probe vorhandenen Rivaroxabans ist [93].

Dieses speziell kalibrierte Testverfahren steht jedoch nicht großflächig und rund um die Uhr zur Verfügung [101], die Durchführung dauert in Notfallsituationen oft zu lange und der Einfluss von möglichen Antagonisten auf die Testsysteme ist nicht evaluiert. Deshalb ist es wichtig, gängige laborchemische Testverfahren hinsichtlich ihrer Möglichkeit zur Quantifizierung der Rivaroxaban-Plasmakonzentration, sowie der Einflussnahme möglicher Antagonisten zu untersuchen. Außerdem könnten Point-of-care Techniken, wie die Rotationsthrombelastometrie aufgrund der schnellen Verfügbarkeit klinische Vorteile bieten [93].

1.8 Antagonisierung von Rivaroxaban

Unter einer Behandlung mit Rivaroxaban treten lebensbedrohliche Blutungen seltener auf als unter Vitamin-K-Antagonisten [132]. Ein großer Nachteil von Rivaroxaban war bisher jedoch das Fehlen eines spezifischen Antidots für den Fall einer akuten Blutung, Trauma oder Notoperation [133-136].

Auch wenn nach Fertigstellung unserer Experimente Andexanet alfa (siehe Abschnitt 1.8.4) 2018 (USA) bzw. 2019 (EU) als ein spezifisches Antidot für direkte Faktor Xa-Inhibitoren zugelassen wurde [137, 138] ist die Frage der Antagonisierung von Rivaroxaban noch immer aktuell [139].

Es gibt bereits einige Studien zur Antagonisierung von Rivaroxaban. Besonders vielversprechend wurden hierbei Prothrombinkomplexpräparat (PPSB) [136, 140, 141], aktivierte Prothrombinkonzentrat (Feiba®) [95, 136] und rekombinanter Faktor VIIa (rFVIIa, NovoSeven®) [95, 136] getestet, weshalb wir diese Substanzen auch in unserer Studie zur Antagonisierung von Rivaroxaban untersuchten. Zur Antagonisierung von Rivaroxaban als Xa-Inhibitor wäre außerdem die Gabe eines Faktor X Präparates denkbar, weshalb wir Faktor X als vierte Substanz zur Antagonisierung von Rivaroxaban testeten.

1.8.1 Prothrombinkomplexpräparat

Prothrombinkomplexpräparat (PPSB, Beriplex®; CSL Behring) ist ein heterogenes Gemisch aus den Vitamin K abhängigen Gerinnungsfaktoren II, VII, IX, X, sowie Protein C und Protein S [142-146]. Aufgrund der hohen Konzentrationen von Faktor X und Thrombin steigert PPSB die Thrombingenerierung [94, 141]. So kann die Blutgerinnung verbessert werden, ohne dass eine hohe Volumenzufuhr benötigt wird, wie das bei fresh frozen plasma (FFP, gefrorenes Frischplasma) der Fall wäre [147].

PPSB ist u.a. für die schnelle Antagonisierung von Vitamin-K-Antagonisten bei Patienten mit schweren Blutungskomplikationen zugelassen [145, 147]. Durch das Fehlen eines spezifischen Antidots für Rivaroxaban wurde PPSB in den letzten Jahren immer mehr off-label auch zur Antagonisierung von Rivaroxaban verwendet [144]. In den Studien hierzu wird von einer kompletten [141] oder teilweisen Reversierung [140, 141,

146, 148, 149] der Rivaroxabanwirkung durch PPSB gesprochen. Außerdem ist die Gabe von PPSB im Vergleich zur Therapie mit anderen Gerinnungsfaktoren mit einem nur geringen Thromboembolierisiko verbunden [150].

1.8.2 Aktiviertes Prothrombinkonzentrat

Aktiviertes Prothrombinkonzentrat (Feiba® „factor eight inhibitor bypassing activity“; Baxter) enthält die Faktoren II, IX und X in überwiegend inaktiver Form, sowie Faktor VII in überwiegend aktivierter Form [151]. Feiba® wird u.a. bei Patienten mit Hämophilie eingesetzt, die Hemmkörper gegen Faktor VIII oder IX haben [152, 153]. Da Feiba auch aktivierten Faktor VIIa enthält, kann es theoretisch die Wirkung von aFVIIa und PPSB kombinieren [154]. In den bisherigen Studien war es möglich, mithilfe von Feiba® in vitro die antikoagulatorische Wirkung von Rivaroxaban zu verringern oder aufzuheben [95, 124, 136, 154-156].

1.8.3 Rekombinanter Faktor VIIa

Die Gabe von rekombinantem aktiviertem Faktor VIIa (rFVIIa, NovoSeven®; Novo Nordisk) führt zu einer massiven Thrombingenerierung [157]. Da Rivaroxaban durch die Hemmung von Faktor Xa die Thrombingenerierung größtenteils verhindert, ist es naheliegend, rFVIIa als möglichen Antagonisten für Rivaroxaban zu testen [124]. Es gibt bereits einige Studien, die die Wirksamkeit von rFVIIa zur Antagonisierung von Rivaroxaban nachweisen [95, 124, 156]. Allerdings ist rFVIIa sehr teuer [155], spricht nur den endogenen Faktorenpool an und ist mit einem erhöhten Risiko für Thromboembolien verbunden [158, 159]. Rekombinanter Faktor VIIa ist u.a. zur Behandlung von Patienten mit angeborener Hämophilie und Hemmkörpern gegen Blutgerinnungsfaktoren VIII oder IX zugelassen [158, 160]. Außerdem gibt es Berichte über den erfolgreichen Einsatz von rFVIIa bei traumatischen und operativen Blutungskomplikationen, die auf keine andere Behandlung ansprechen [161-164].

1.8.4 Faktor X und Andexanet alfa (AndexXa®)

Faktor X (Faktor X®; CSL Behring) enthält die Blutgerinnungsfaktoren X und IX. Zur Antagonisierung von Rivaroxaban als Xa-Inhibitor, liegt die Gabe eines Faktor X Präparates, und somit die Zufuhr des durch Rivaroxaban gehemmten Gerinnungsfaktors

nahe. Nach unserer Kenntnis gibt es bisher keine Studien, die die Antagonisierung von Rivaroxaban mit Faktor X getestet haben.

Seit Mai 2018 ist jedoch mit Andexanet alfa (AndexXa®; Portola Pharmaceuticals, USA) ein spezifisches Antidot für Rivaroxaban und Apixaban auf dem Markt [137]. Andexanet alfa ist ein rekombinanter, modifizierter humaner Faktor X [42, 135]. Er wirkt als eine Art Köder (decoy), indem er mit einer höheren Affinität als nativer Faktor Xa an Faktor Xa-Inhibitor im Blut bindet und dessen antikoagulatorische Wirkung innerhalb von 2-5 Minuten neutralisiert [19, 165]. So wird dessen Bindung an nativen Faktor Xa und die daraus resultierende gerinnungshemmende Wirkung verhindert [165-167].

2 Zielsetzung

Im Rahmen dieser in vitro Studie soll die Möglichkeit von Monitoring und Antagonisierbarkeit von Rivaroxaban untersucht werden. Dies geschieht vor dem Hintergrund, dass die direkten oralen Antikoagulanzen, darunter auch Rivaroxaban, mehr und mehr im klinischen Alltag eingesetzt werden. Um in speziellen (Notfall-)situationen richtig handeln zu können, ist es essenziell, folgende Fragen zu klären:

1. Mit welchen laborchemischen globalen und speziellen Messverfahren können einerseits die Wirkung von Rivaroxaban quantifiziert, andererseits auch die Verbesserung der Blutgerinnung nach Antagonisierung dargestellt werden?
2. Mit welchen Faktorenkonzentraten kann die Wirkung von Rivaroxaban antagonisiert werden?

Um dies zu erreichen, wurden in dieser Studie in vitro unterschiedliche laborchemische Monitoringverfahren zur Messung der Rivaroxabanwirkung getestet, sowie verschiedene Faktorenkonzentrate hinsichtlich ihres Potenzials zur Antagonisierung von Rivaroxaban untersucht.

3 Material und Methoden

3.1 Probengewinnung

Nach Zustimmung der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München (positives Votum zur ethisch-rechtlichen Unbedenklichkeit vom 12.04.2011) erfolgte die Gewinnung der Blutproben über freiwillige Blutspender der Abteilung für Transfusionsmedizin und Hämostaseologie des Klinikums der Universität München. Insgesamt wurden Blutproben von 129 gesunden Probanden untersucht. Dabei wurde auf Proben zurückgegriffen, die routinemäßig bei jeder Blutspende gewonnen werden (sogenanntes predonation sampling). Insgesamt wurden jedem Blutspender 3-4 solcher predonation samples entnommen. Das Blut wurde in handelsüblichen Citratröhrchen aus Plastik (Natriumcitrat 1,06 mol/l; Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) abgenommen. Es wurden nur Probanden in die Studie eingeschlossen, die keine Dauermedikation erhielten und in den letzten 14 Tagen vor der Blutentnahme keine Medikamente mit Auswirkung auf die Blutgerinnung eingenommen hatten.

3.2 Probenverarbeitung

Die in vitro Untersuchungen erfolgten je nach Test in Vollblut oder Plasma. Die ROTEM® Untersuchungen wurden in Vollblut innerhalb von max. 4 Stunden nach Blutentnahme parallel auf 4 Kanälen durchgeführt.

Das Blut zur Bestimmung aller anderen Parameter (PT, aPTT, TDT, Anti-FXa-Aktivität) wurde innerhalb einer Stunde nach Blutentnahme bei 4000 Umdrehungen pro Minute für 20 Minuten zentrifugiert und das plättchenarme Plasma (PPP) zur späteren Analyse bei -80°C portionsweise eingefroren. Aufgetaut wurde das Plasma im Wasserbad bei 37°C und die Weiterverarbeitung erfolgte direkt im Anschluss. Um die Reproduzierbarkeit der Daten zu überprüfen, wurden die Messungen doppelt durchgeführt.

3.3 Vorarbeiten und Festlegungen

Zunächst wurden die später verwendeten Konzentrationen Rivaroxaban ermittelt. Dies erfolgte anhand der in der Literatur angegebenen Plasmakonzentrationen nach der Gabe von 10mg bzw. 20mg Rivaroxaban (siehe Tabelle 1.1).

Für unsere Versuche wählten wir die Konzentrationen 0,10µg/ml und 0,20µg/ml Rivaroxaban.

Tabelle 3.1 Übersicht über die Literatur zur Dosisfindung von Rivaroxaban in dieser Studie

Dargestellt sind Ergebnisse verschiedener Studien. Nach Gabe von 10mg bzw. 20mg Rivaroxaban täglich für mindestens 5 Tage folgte jeweils eine Blutentnahme zur Messung der maximalen Plasmakonzentration (C_{max}).

*Review aus insgesamt 15 Studien

Autoren	Dosierung	C_{max}
Mueck et al. [168]	10 mg tägl. 20 mg tägl.	0,125 µg/ml 0,223 µg/ml
Kubitza et al. [126]	10 mg tägl.	0,158 µg/ml
Kreutz et al. [169]	20 mg tägl.	0,227 µg/ml
Girgis et al. [170]	20 mg tägl.	0,229 µg/ml
Cuker et et al.* [100]	20 mg tägl.	0,274 µg/ml

Außerdem wurden die einzusetzenden Testverfahren evaluiert. Es wurden diejenigen Testsysteme ermittelt, welche einen gut messbaren, konzentrationsabhängigen Effekt der in-vitro Zugabe von Rivaroxaban zeigten. Zudem modifizierten wir die Auswahl aufgrund der Verfügbarkeit neuer, spezifischer Testsysteme (Anti-Faktor Xa-Aktivität) bzw. Schwierigkeiten beim Einsatz anderer Testsysteme.

3.3.1 Einfluss von DMSO

Dimethylsulfoxid (DMSO, $(CH_3)_2SO$; Merck, Darmstadt, Deutschland) ist ein wichtiges Lösungsmittel, das eine große Bandbreite von sonst schwer löslichen polaren und unpolaren Molekülen in Lösung bringen kann [171].

Rivaroxaban lässt sich nur schwer in wässrige Lösung bringen und wurde daher, wie auch in den meisten anderen Studien [129, 172, 173], in DMSO gelöst. Um einen möglichen Einfluss von DMSO auf die einzelnen Gerinnungstests zu verringern, wurde DMSO für unsere Rivaroxaban-Stammlösung 1:1 mit Aqua verdünnt. Außerdem wurden verschiedene Vorversuche durchgeführt, um einen möglichen Einfluss von DMSO auf die von uns verwendeten Gerinnungstests feststellen zu können. In keiner der Messreihen zeigte sich ein statistisch signifikanter Einfluss von DMSO auf die Messergebnisse. (siehe Anhang 8.3.2).

3.3.2 Versuche mit NaCl

Um einen Dilutionseffekt durch die Zugabe von Rivaroxaban bzw. Antagonisten zu quantifizieren, wurde eine Messreihe von $n=5$ durchgeführt, in der für die verwendeten Testsysteme ein Leerwert mit einer Plasma- bzw. Vollblutprobe, die mit $36\mu\text{l}$ NaCl verdünnt war, verglichen wurde (siehe Anhang 8.3.1).

3.4 Hauptversuche

Nach Festlegung der beiden Rivaroxabankonzentrationen und der einzusetzenden Testsysteme, wurde in einer Serie von Versuchen an Blutproben von 10 Probanden die Antagonisierbarkeit von Rivaroxaban getestet.

Für sämtliche Berechnungen der Plasmakonzentrationen von Antikoagulanzen (Rivaroxaban) und Antagonisten (PPSB, Feiba®, Faktor X und NovoSeven®, s.u.) gingen wir von einem Patienten mit 70 kg KG aus. In der Annahme, dass das Plasmavolumen 5 % des Körpergewichts beträgt [174], hat dieser Patient ein Plasmavolumen von 3,5 l.

3.5 Antikoagulanzen

3.5.1 Rivaroxaban

Rivaroxaban (Xarelto®; Bayer AG) wurde in folgender Lösung geliefert:

$20\text{ mM} = 20\text{ mmol/l} = 6\text{ mg Rivaroxaban in } 688\mu\text{l DMSO} = 8,72\mu\text{g}/\mu\text{l}$

Zur Herstellung unserer Stammlösung wurde ein Lösungsmittel aus 50 ml DMSO und 50 ml Aqua hergestellt. Von der Rivaroxabanlösung wurden nun $50\mu\text{l} = 436\mu\text{g} = 1\mu\text{mol}$ in 100 ml Lösungsmittel gelöst, wobei vor der Zugabe der Rivaroxabanlösung $50\mu\text{l}$ des Lösungsmittels verworfen wurden.

Unsere Stammlösung Rivaroxaban enthielt also $436\mu\text{g}$ in 100 ml Lösungsmittel, also $4,36\mu\text{g/ml} = 10\mu\text{mol/l}$.

Somit erfolgte für eine Zielkonzentration von $0,10\mu\text{g/ml}$ Rivaroxaban in $500\mu\text{l}$ Plasma bzw. Vollblut eine Zugabe von $24\mu\text{l}$ dieser Stammlösung, für die hohe Rivaroxabankonzentration von $0,20\mu\text{g/ml}$ waren es $48\mu\text{l}$.

3.6 Faktorenkonzentrate

Die Möglichkeit der Antagonisierung von Rivaroxaban wurde mit verschiedenen Faktorenkonzentraten untersucht. Dabei wurden die Faktorenkonzentrate so dosiert, dass sich die resultierenden Plasmakonzentrationen an üblichen Dosierungen für einen 70 kg schweren Erwachsenen orientierten: 2000 IE für Beriplex®, Feiba® und Faktor X [95, 136, 141]; $90\mu\text{g/kg KG}$ für NovoSeven® [93].

In der Annahme, dass das Plasmavolumen 5 % des Körpergewichts beträgt [174], hatte unser Patient ein Plasmavolumen von 3,5 l. Bei einer Zielkonzentration von etwa 2000 IE erfolgte die Dosisfindung der Faktorenkonzentrate also folgendermaßen:

$$2000\text{ IE} / 3500\text{ ml} = 0,571\text{ IE/ml für PPSB, Feiba® und Faktor X}$$

$$90\mu\text{g} \times 70\text{ kg} / 3500\text{ ml} = 1,8\mu\text{g/ml für NovoSeven®}$$

Für jedes Faktorenkonzentrat wurde eine Stammlösung hergestellt, deren Dosierung so gewählt war, dass die Zugabe Faktorenkonzentrat zwischen $12\mu\text{l}$ und $18\mu\text{l}$ betrug, um die jeweilige Zielkonzentration in $500\mu\text{l}$ Plasma bzw. Vollblut zu erhalten (Abweichungen jeweils bei der hohen Dosierung PPSB und Faktor X). Die auf den 70 kg Menschen übertragenen Dosierungen für PPSB und Faktor X lagen nach diesen Berechnungen bei 2188 IE bzw. 2026 IE, wobei im Verlauf neben diesen Dosierungen jeweils zusätzlich eine doppelt so hohe Dosierung von 4376 IE bzw. 4052 IE in einigen Testsys-

temen geprüft wurde. Die ermittelten Dosierungen für Feiba® und NovoSeven® lagen bei 2100 IE bzw. 6300 µg.

Die Stammlösungen von Feiba®, Faktor X und NovoSeven® wurden portionsweise bei -20 °C eingefroren, PPSB wurde jeweils frisch gelöst. Aufgetaut wurden die Stammlösungen der Faktorenkonzentrate im Wasserbad bei 37 °C und die Weiterverarbeitung erfolgte direkt im Anschluss.

3.6.1 Prothrombinkomplexpräparat (PPSB)

Für unsere Versuche verwendeten wir ein humanes Prothrombinkomplexpräparat (PPSB, Beriplex®; CSL Behring, Marburg, Deutschland). Dieses enthält neben den in Tabelle 3.2 aufgelisteten Bestandteilen außerdem Heparin, humanes Albumin, humanes Antithrombin III, NaCl, Natriumcitrat, sowie in geringen Mengen HCl bzw. NaOH zur Einstellung des pH-Wertes [145].

Tabelle 3.2 In Beriplex® (PPSB) enthaltene Gerinnungsfaktoren.
Angegeben sind die Konzentrationen in der gebrauchsfertigen Lösung [145]

Arzneilich wirksame Bestandteile	Konzentration (IE/ml)
Humaner Blutgerinnungsfaktor II	20-48
Humaner Blutgerinnungsfaktor VII	10-25
Humaner Blutgerinnungsfaktor IX	20-31
Humaner Blutgerinnungsfaktor X	22-60
Protein C	15-45
Protein S	12-38

Die von uns verwendete PPSB-Stammlösung wurde wie folgt hergestellt: 500 IE Beriplex® gelöst in 20ml Wasser für Injektionszwecke. Somit betrug die Konzentration unserer Stammlösung $500 \text{ IE} / 20 \text{ ml} = 25 \text{ IE} / 1 \text{ ml} = 0,025 \text{ IE} / 1 \mu\text{l}$.

Die von uns verwendete niedrige Dosierung PPSB für einen 70kg Menschen betrug 2188 IE. Dies entspricht einer Zugabe von 25 μl PPSB-Stammlösung zu 1000 μl Plasma oder Vollblut, also 0,625 IE ($0,025 \text{ IE} / \mu\text{l} \times 25 \mu\text{l} = 0,625 \text{ IE}$). Die in den Testreihen verwendeten Plasma- bzw. Vollblutproben hatten ein Volumen von 500 μl . Hier lag die PPSB-Zugabe folglich bei 12,5 μl .

Die in einigen Testsystemen eingesetzte hohe Dosierung PPSB betrug 4375 IE auf 70kg KG. Dies entspricht einer Zugabe von 50 μl PPSB-Stammlösung zu 1000 μl Plasma oder Vollblut, also 1,25 IE ($0,025 \text{ IE} / \mu\text{l} \times 50 \mu\text{l} = 1,25 \text{ IE}$). Bei Probenvolumina von 500 μl ergab dies eine Zugabe von 25 μl PPSB-Stammlösung.

3.6.2 aktiviertes Prothrombinkonzentrat (Feiba®)

Für unsere Experimente verwendeten wir aktiviertes Prothrombinkonzentrat (Feiba® „factor eight inhibitor bypassing activity“; Baxter, Unterschleißheim, Deutschland). Dieses enthält neben den in Tabelle 3.3 aufgelisteten Bestandteilen auch Spuren der Faktoren des Kallikrein-Kinin-Systems, NaCl und Natriumcitrat [153].

Tabelle 3.3 Arzneilich wirksame Bestandteile von FEIBA®. Die Konzentrationsangaben gelten für eine Durchstechflasche mit 20 mL Lösung und 500 IE FEIBA® [151]

FEIBA - Arzneilich wirksame Bestandteile	Konzentration
Factor-VIII-inhibitor-bypass-Aktivität	25 IE/ml
Humaner Blutgerinnungsfaktor II, überwiegend nicht aktiviert	} ~25 IE/ml
Humaner Blutgerinnungsfaktor IX, überwiegend nicht aktiviert	
Humaner Blutgerinnungsfaktor X, überwiegend nicht aktiviert	
Humaner Blutgerinnungsfaktor VII, überwiegend aktiviert	
Faktor VIII Gerinnungs-Antigen (F VIII C:Ag)	1-6 IE/ml

Für unsere Experimente stellten wir folgende Feiba®-Stammlösung her: 1000 IE Feiba® in 20 ml Wasser für Injektionszwecke. Folglich betrug die Konzentration unserer Stammlösung $1000 \text{ IE} / 20 \text{ ml} = 50 \text{ IE} / 1 \text{ ml} = 0,05 \text{ IE} / 1 \mu\text{l}$.

Die von uns verwendete Dosierung Feiba® betrug 2100 IE pro 70 kg KG. Dies entspricht einer Zugabe von 12 μl Feiba®-Stammlösung zu 1000 μl Plasma bzw. Vollblut, also 0,6 IE ($0,05 \text{ IE} / \mu\text{l} \times 12 \mu\text{l} = 0,6 \text{ IE}$). Die erhaltene Stammlösung wurde nochmals 1:1 mit Wasser für Injektionszwecke verdünnt. Von dieser Lösung wurden 15 μl zu 500 μl Plasma- bzw. Vollblut zugegeben.

3.6.3 rekombinanter Faktor VIIa (rFVIIa, Novo Seven®)

Für unsere Experimente verwendeten wir NovoSeven®, ein rekombinantes Faktor VIIa-Präparat (rFVIIa; NovoNordisk, Mainz, Deutschland). Dieses enthält Eptacog alfa, einen rekombinanten Blutgerinnungsfaktor VIIa. Weitere Bestandteile von NovoSeven® sind NaCl, Calciumchlorid-Dihydrat, N-Glycylglycin, Polysorbat 80, Mannitol, Sucrose, Methionin, sowie in geringen Mengen HCl bzw. NaOH zur Einstellung des pH-Wertes. Nach Rekonstitution mit dem Lösungsmittel (Histidin, Salzsäure, Natriumhydroxid, Wasser für Injektionszwecke) enthält NovoSeven® 1 mg/ml Eptacog alfa (aktiviert) [159].

Für die Zugabe von rekombinatem Faktor VIIa wurde folgende Stammlösung hergestellt: 2 mg rFVIIa in 20 ml Wasser für Injektionszwecke. Die Konzentration unserer Stammlösung betrug also $2 \text{ mg} / 20 \text{ ml} = 100 \mu\text{g} / 1 \text{ ml} = 0,1 \mu\text{g} / 1 \mu\text{l}$.

Für eine Dosierung von 6300 μg bei 70 kg KG ($90 \mu\text{g} / \text{kg} \times 70 \text{ kg} = 6300 \mu\text{g}$) und einem Plasmavolumen von 3500 ml, ergab sich eine Zugabe von 18 μl rFVIIa-Stammlösung zu 1000 μl Plasma oder Vollblut, also 1,8 μg ($0,1 \mu\text{g} / \mu\text{l} \times 18 \mu\text{l} = 1,8 \mu\text{g}$). Die erhaltene Stammlösung wurde nochmals 1:1 mit Wasser für Injektionszwecke verdünnt. Von dieser Lösung wurden 18 μl zu 500 μl Plasma- bzw. Vollblut zugegeben.

3.6.4 Faktor X Präparat

Das für unsere Experimente verwendete Faktor X Präparat (Faktor X® P; CSL Behring, Marburg, Deutschland) enthält neben den humanen Gerinnungsfaktoren X und IX auch

Antithrombin III, Heparin, Aminoessigsäure, Kalziumchlorid, Kochsalz, Natriumcitrat, sowie in geringen Mengen HCl und NaOH zur Einstellung des pH-Wertes [175].

Wir stellten folgende Faktor X-Stammlösung her: 772 IE Faktor X gelöst in 20 ml Wasser für Injektionszwecke. Die Konzentration dieser Stammlösung betrug also $772 \text{ IE} / 20 \text{ ml} = 38,6 \text{ IE} / 1 \text{ ml} = 0,0386 \text{ IE} / 1 \mu\text{l}$. Die von uns verwendete niedrige Dosierung Faktor X betrug 2026,5 IE/70 kg KG. Dies entspricht einer Zugabe von 15 μl Faktor X-Stammlösung zu 1000 μl Plasma oder Vollblut, also 0,579 IE ($0,0386 \text{ IE} / \mu\text{l} \times 15 \mu\text{l} = 0,579 \text{ IE}$). Die erhaltene Stammlösung wurde nochmals 1:1 mit Wasser für Injektionszwecke verdünnt. Von dieser Lösung wurden 15 μl zu 500 μl Plasma- bzw. Vollblut zugegeben.

Die in einigen wenigen Testsystemen eingesetzte hohe Dosierung Faktor X betrug 4053 IE/70 kg KG. Dies entspricht einer Zugabe von 30 μl Faktor X-Stammlösung zu 1000 μl Plasma oder Vollblut, also 1,158 IE ($0,0386 \text{ IE} / \mu\text{l} \times 30 \mu\text{l} = 1,158 \text{ IE}$). Zu 500 μl Plasma- bzw. Vollblutprobe ergab dies eine Zugabe von 30 μl der nochmals 1:1 mit Wasser für Injektionszwecke verdünnten Faktor X-Stammlösung.

3.7 Reagenzien und Testdurchführung

3.7.1 Globalgerinnungstests

3.7.1.1 Quickwert

Die Messung des Quickwertes erfolgte auf dem automatischen Koagulationsmessgerät ACL TOP 500 (Instrumentation Laboratory, Bedford, USA) gemäß der Anleitung des Herstellers.

Wir testeten mit jeweils zwei Testansätzen mit unterschiedlichem Tissue factor. Zum einen mit Recombiplastin (RecombiPlasTin 2G; Instrumentation Laboratory, Bedford, MA, USA) (Referenzwert 70 %-120 %) und zum anderen mit Neoplastin (Neoplastin Plus; Diagnostica Stago, Asnières, Frankreich) (Referenzwert 70 %-130 %). Recombiplastin ist ein rekombinantes menschliches Thromboplastin, während Neoplastin aus dem Gehirn von Hasen extrahiert wird [103].

3.7.1.2 Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT)

Die Messung der aPTT erfolgte auf dem ACL TOP 500 (Instrumentation Laboratory, Bedford, USA) gemäß der Anleitung des Herstellers.

Wir testeten mit jeweils zwei Reagenzien, aPTT-SP (Instrumentation Laboratory, Bedford, USA) (Referenzwert 25,4 - 36,9 Sekunden) und aPTT-SS (SynthASil; Instrumentation Laboratory, Bedford, USA) (Referenzwert 25,1 - 36,5 Sekunden).

Das SynthASil aPTT-Reagenz ist ein gepuffertes Phospholipidreagenz mit synthetischen Liposomen, welches Silicagel, Stabilisatoren und Konservierungsmittel enthält [106]. Das aPTT-SP Reagenz ist eine kolloidale Silica-Dispersion mit synthetischen Phospholipiden, Puffer und Konservierungsmitteln [104].

3.7.2 Spezielle Testmethoden

3.7.2.1 Thrombin dynamics test (TDT)

Die Messungen des Thrombin dynamics test (TDT) wurden optisch auf dem Behring Koagulationssystem Analysegerät (BCS; Siemens, Marburg, Deutschland) aufgezeichnet und mit einer speziellen Software (TDT Analysis Software for BCS® - V 1.0.33) ausgewertet.

Der Ablauf der Thrombinbildung hängt von der Menge und Art des verwendeten Triggers ab [109]. Wir führten den TDT (Pentapharm, Basel, Schweiz) sowohl mit intrinsischer (TDTin), als auch mit extrinsischer Aktivierung (TDTex) durch.

Der Ablauf der Gerinnung wird durch Zugabe von 60 µl Kontaktaktivator-Reagenz zu 60 µl Plasmaprobe ausgelöst. Für den TDTin ist dieser Aktivator ein aPTT-Reagenz auf Basis von Ellagsäure und Phospholipiden (in-TDT® Aktivator; Pentapharm, Basel, Schweiz) und für die TDTex Tissue factor (Recombiplastin 2G; Instrumentation Laboratory, Bedford, USA). Dieses Kontaktaktivator-Reagenz wird 1:3 in 0,9% NaCl verdünnt und nach Zugabe zur Plasmaprobe für 180 s bei 37 °C inkubiert. Anschließend werden sowohl für den TDTin als auch den TDTex 60 µl Reagenz zugefügt. Dieses setzt sich aus folgenden Komponenten zusammen: CaCl₂, einem Inhibitor der Fibrin-Polymerisation (Pefabloc® FG, H-Gly-Pro-Arg-Pro-OH AcOH; Pentapharm, Basel,

Schweiz), und einem chromogenen Substrat (Pefachrome® TH; Pentapharm, Basel, Schweiz, H-D-CHG-Ala-Arg-pNa 2AcOH), welches schnell von Thrombin gespalten wird. Hierbei wird p-Nitroanilin (p-NA) freigesetzt, dessen Absorption kontinuierlich bei 405 nm über 4-10 Minuten gemessen wird.

3.7.2.2 Rotationsthrombelastometrie (ROTEM®)

Die Rotationsthrombelastometrie wurde auf einem ROTEM®-System (TEM® Innovations, München, Deutschland) mit Zitratvollblut durchgeführt. Die Messungen erfolgten bei 37 °C innerhalb von zwei Stunden nach Blutentnahme mit einer Laufzeit von 30 Minuten.

Die Messungen erfolgten in den Vorversuchen mit jeweils einem intrinsischen (INTEM®) und einem extrinsischen (EXTEM®) Aktivator. INTEM enthält Ellagsäure, welche die Kontaktphase und somit die intrinsische Blutgerinnung aktiviert. EXTEM enthält Tissue factor und Phospholipide und aktiviert so die extrinsische Blutgerinnung. Nach Zugabe des jeweiligen Aktivators wird der Ablauf der Blutgerinnung durch Zugabe von STARTEM®, einem Reagenz zur Rekalzifizierung des Zitratvollblutes in Gang gesetzt [118].

Da die Rivaroxaban-Plasmakonzentration in unseren Vorversuchen jedoch nicht signifikant mit der Rotationsthrombelastometrie mit intrinsischer Aktivierung (INTEM) korrelierte (Daten nicht aufgeführt), wurde in den Hauptversuchen lediglich die Rotationsthrombelastometrie mit extrinsischer Aktivierung (EXTEM) durchgeführt.

3.7.2.3 Anti-Faktor Xa-Aktivität (STA® Liquid Anti-Xa)

Die Messung der Anti-Faktor Xa-Aktivität erfolgte auf dem ACL TOP 500 (Instrumentation Laboratory, Bedford, USA) mit dem STA®-Liquid Anti-Xa-Testkit (chromogenes Substrat CBS 02.44, flüssiger Faktor Xa und STA® Rivaroxaban Kalibrator und Kontrolle; Diagnostica Stago, Asnières, Frankreich) gemäß der Anleitung des Herstellers.

Hierbei werden zu Patientenplasma chromogenes Substrat und ein definierter Überschuss Faktor Xa gegeben [131]. Ein Teil des Faktor Xa wird von Rivaroxaban ge-

hemmt. Gleichzeitig hydrolysiert der nicht an Rivaroxaban gebundene Faktor Xa das chromogene Substrat und wird so quantitativ erfasst [98].

3.8 Statistische Auswertung

Die Auswertung erfolgte mit der SigmaStat Software (Version 3.5, Systat Software GmbH, San José, USA).

Die Abhängigkeit zweier Faktoren wurde mithilfe des Spearman-Korrelationskoeffizienten R quantifiziert. Dieser beschreibt den Zusammenhang zwischen zwei Variablen, wobei R Werte zwischen +1 und -1 annimmt. Ist $R > 0$, weist dies auf eine positive Verbindung zwischen den beiden Variablen hin, sie verändern sich gleichsinnig. Ist $R < 0$, deutet dies auf eine negative Verbindung zwischen den beiden Variablen hin, sie verändern sich gegenläufig. Je näher R bei 1 bzw. -1 liegt, desto stärker ist der gemessene Zusammenhang. Ein Korrelationskoeffizient von Null zeigt an, dass keine Verbindung zwischen den beiden Variablen besteht:

$0,0 \leq R \leq 0,2$ kein bis geringer Zusammenhang

$0,2 \leq R \leq 0,5$ geringer bis mäßiger Zusammenhang

$0,5 \leq R \leq 0,8$ deutlicher Zusammenhang

$0,8 \leq R \leq 1,0$ sehr hoher Zusammenhang

Um die Wirkung der unterschiedlichen Antagonisten zu quantifizieren, wurde eine einfaktorielle Varianzanalyse (oneway Analysis of Variance, ANOVA), gefolgt vom Tukey-Test durchgeführt. Dieser Test vergleicht die Mittelwerte zweier unabhängiger Stichproben miteinander. Er gehört zu den nicht parametrischen Verfahren, die Stichproben müssen also nicht normalverteilt sein.

Als Vergleichstest für unterschiedlich große Stichproben (Testreihen mit PPSB bzw. Faktor X in zwei Konzentrationen) wurde der Dunn-Test verwendet. Dieser wird anstatt des Tukey-Tests für einen ANOVA an Rängen verwendet, wenn die Probengrößen unterschiedlicher Behandlungsgruppen verschieden sind.

Verglichen wurden die verschiedenen Rivaroxabankonzentrationen jeweils untereinander und mit einem Kontrollwert (Leerwert). Daneben wurden Vergleiche gezogen zwischen den Testansätzen mit der Kombination aus Rivaroxaban + Antagonist, Rivaroxaban alleine und dem jeweiligen Kontrollwert.

Je nach Verteilung wurden die Daten als Mittelwert \pm Standardabweichung bzw. Medianwert und 25.-75. Perzentile angegeben. Die Grenze der Signifikanz wurde mit $p < 0,05$ festgelegt.

Die Ergebnisse wurden graphisch als Boxplots dargestellt, wobei die Box den Bereich kennzeichnet, in dem die mittleren 50% der Daten liegen. Die Box wird also durch die 25. und die 75. Perzentile begrenzt [1, 2]. Die horizontale Linie in der Box kennzeichnet den Median, während die beiden Enden der Antennen die 10. und 90. Perzentile bestimmen. Ausreißer sind als Kreise dargestellt.

4 Ergebnisse

4.1 Quickwert

Die Rivaroxaban-Plasmakonzentration zeigte eine hochsignifikante negative Korrelation mit dem Quickwert. Mit Zunahme des Rivaroxaban-Spiegels nahm der Quickwert also ab.

Der Quickwert mit Neoplastin als Tissue factor zeigte mit einem Spearman-Korrelationskoeffizienten von $R = -0,94$ ($p < 0,000001$) eine lineare Korrelation mit der Rivaroxaban-Plasmakonzentration (siehe Abbildung 4.1).

Mit dem Tissue factor Recombiplastin war die Korrelation nicht linear, zeigte aber einen hohen Zusammenhang. Der Korrelationskoeffizient lag bei $R = -0,87$ ($p < 0,000001$) (siehe Abbildung 4.2).

Jede Dosissteigerung um $0,05 \mu\text{g/ml}$ Rivaroxaban bewirkte eine Abnahme des Quickwertes um durchschnittlich $9,5\%$ (Tissue factor Neoplastin) bzw. $10,9\%$ (Tissue factor Recombiplastin). Hierbei zeigte sich, dass die gemessene Abnahme des Quickwertes nur bis zu einer Konzentration von $0,15 \mu\text{g/ml}$ gut korrelierte ($\geq 10,5\%$ pro $0,05 \mu\text{g/ml}$ Dosissteigerung Rivaroxaban). Die weitere Steigerung der Rivaroxabankonzentration hin zu $0,20 \mu\text{g/ml}$ bewirkte nur mehr eine Abnahme des Quickwertes um durchschnittlich $4,2\%$ (Tissue factor Neoplastin) bzw. 1% (Tissue factor Recombiplastin).

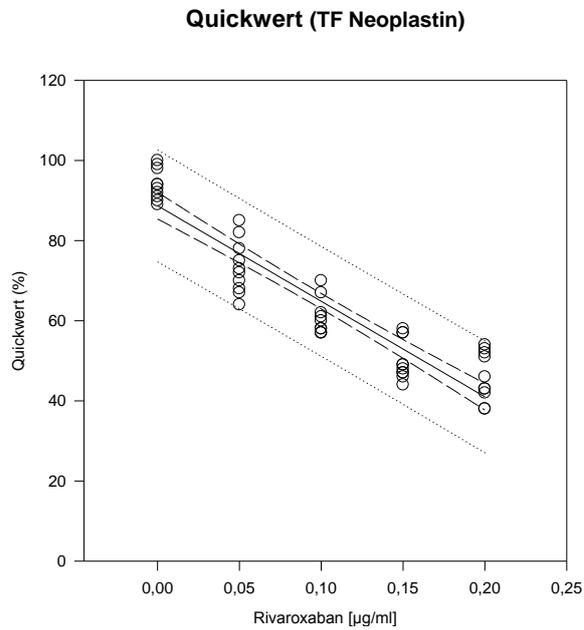


Abbildung 4.1 Einfluss von Rivaroxaban in verschiedenen Konzentrationen (0,00 µg/ml-0,20 µg/ml) auf den Quickwert (Tissue factor Neoplastin)

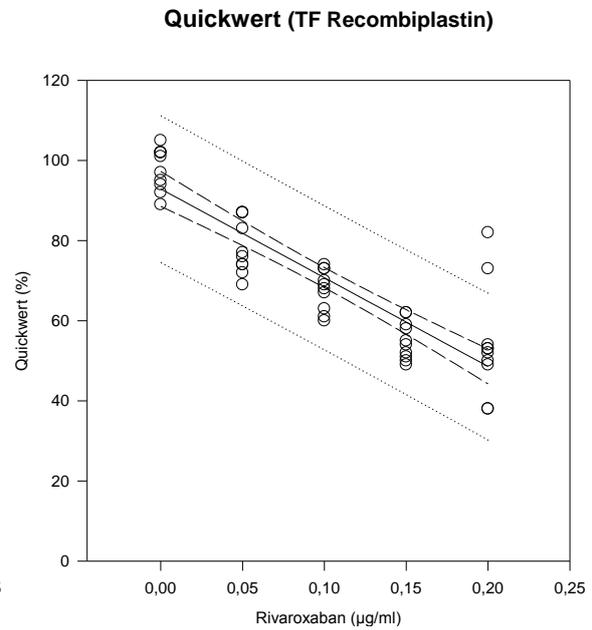


Abbildung 4.2 Einfluss von Rivaroxaban in verschiedenen Konzentrationen (0,00 µg/ml-0,20 µg/ml) auf den Quickwert (Tissue factor Recombiplastin)

PPSB®

Durch Zugabe von PPSB konnte keine statistisch signifikante Verbesserung des Quickwertes bewirkt werden (siehe Abbildung 4.3 und Abbildung 4.4).

Die im Testansatz mit der niedrigen Rivaroxabandosierung (0,10 µg/ml) beobachtete Zunahme des Quickwertes um durchschnittlich 13 % (Neoplastin und Recombiplastin) nach Zugabe von 2188 IE PPSB, war statistisch nicht signifikant ($p > 0,05$). Der Quickwert konnte mit einer höheren Konzentration PPSB (4376 IE) nicht weiter verbessert werden.

Im Testansatz mit der höheren Rivaroxabandosierung (0,20 µg/ml) konnte kein nennenswerter Effekt von PPSB auf den Quickwert gezeigt werden.

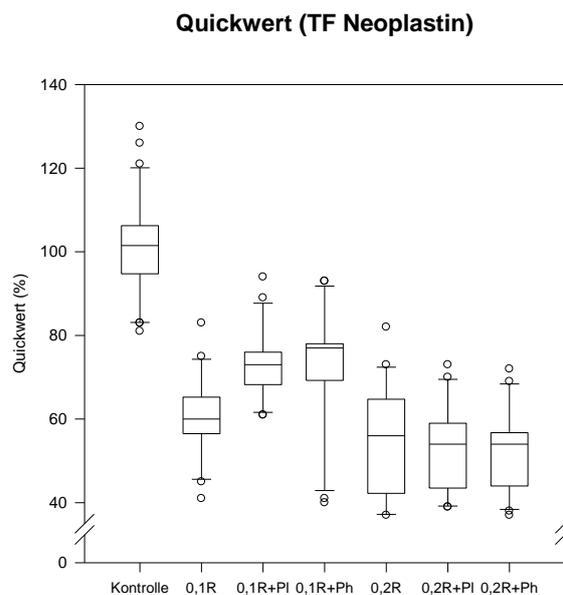


Abbildung 4.3 Antagonisierung von Rivaroxaban mit PPSB. Darstellung des Quickwertes (Tissue factor Neoplastin)

0,1 R=0,1 µg/ml Rivaroxaban; 0,2 R=0,2 µg/ml Rivaroxaban; PI=2188 IE PPSB; Ph=4376 IE PPSB

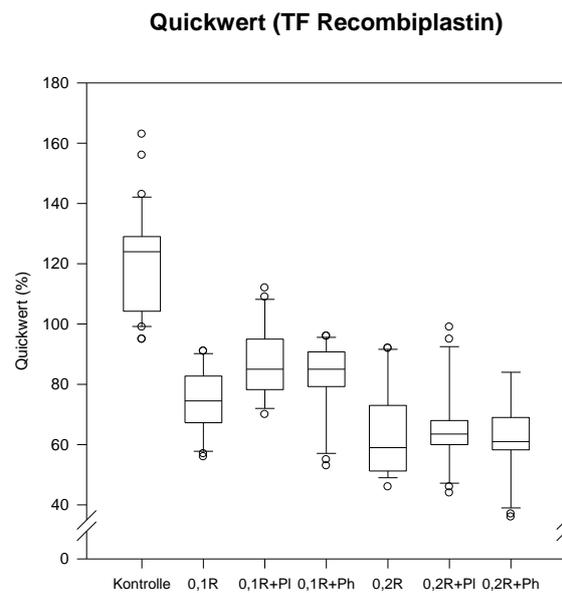


Abbildung 4.4 Antagonisierung von Rivaroxaban mit PPSB. Darstellung des Quickwertes (Tissue factor Recombiplastin)

0,1 R=0,1 µg/ml Rivaroxaban; 0,2 R=0,2 µg/ml Rivaroxaban; PI=2188 IE PPSB; Ph=4376 IE PPSB

Feiba®

Feiba® bewirkte sowohl mit Neoplastin als auch mit Recombiplastin als Tissue factor im Testansatz mit der niedrigen Rivaroxabandosierung (0,10 µg/ml) eine Normalisierung des Quickwertes. Im Testansatz mit der hohen Konzentration Rivaroxaban (0,20 µg/ml) wurde eine signifikante Verbesserung des Quickwertes erreicht (siehe Abbildung 4.5 und Abbildung 4.6).

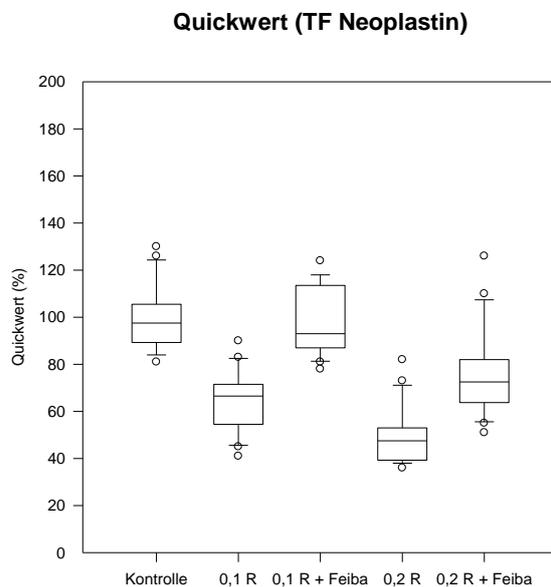


Abbildung 4.5 Antagonisierung von Rivaroxaban mit Feiba®. Darstellung des Quickwertes (Tissue factor Neoplastin)

0,1 R=0,10 µg/ml Rivaroxaban; 0,2 R=0,20 µg/ml Rivaroxaban; +Feiba=Zugabe von 2100 IE Feiba

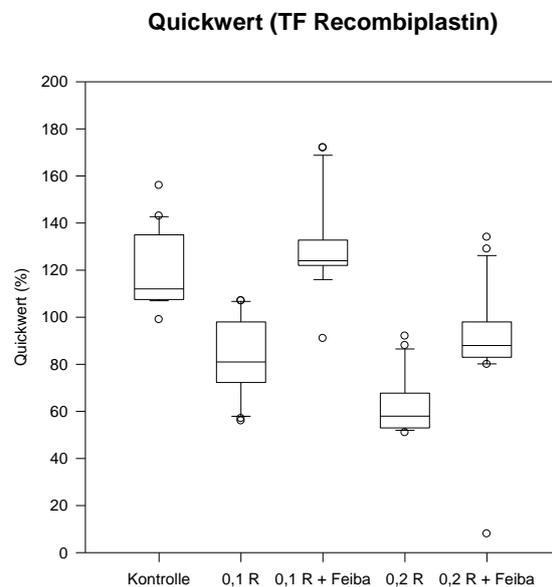


Abbildung 4.6 Antagonisierung von Rivaroxaban mit Feiba®. Darstellung des Quickwertes (Tissue factor Recombiplastin)

0,1 R=0,10 µg/ml Rivaroxaban; 0,2 R=0,20 µg/ml Rivaroxaban; +Feiba=Zugabe von 2100 IE Feiba

rFVIIa

Rekombinanter Faktor VIIa bewirkte eine deutliche Erhöhung des Quickwertes (siehe Abbildung 4.7 und Abbildung 4.8).

Im Testansatz mit 0,10 µg/ml Rivaroxaban und Recombiplastin als Tissue factor konnte der genaue Quickwert vom Gerät (ACL TOP® 500, s.o.) nicht erfasst werden, da Werte >200% nicht gemessen werden. Es zeigte sich eine signifikante Überkorrektur von durchschnittlich +86% gegenüber dem Leerwert (Prozentangaben bezeichnen hier die Einheit des Quickwertes). Im Testansatz mit der hohen Rivaroxabandosierung (0,20 µg/ml) betrug die Zunahme des Quickwertes nach Zugabe von rFVIIa durchschnittlich +101% gegenüber dem Leerwert.

Mit Neoplastin als Tissue factor zeigte sich eine vollständige Normalisierung des Quickwertes durch rFVIIa, ohne signifikante Überkorrektur.

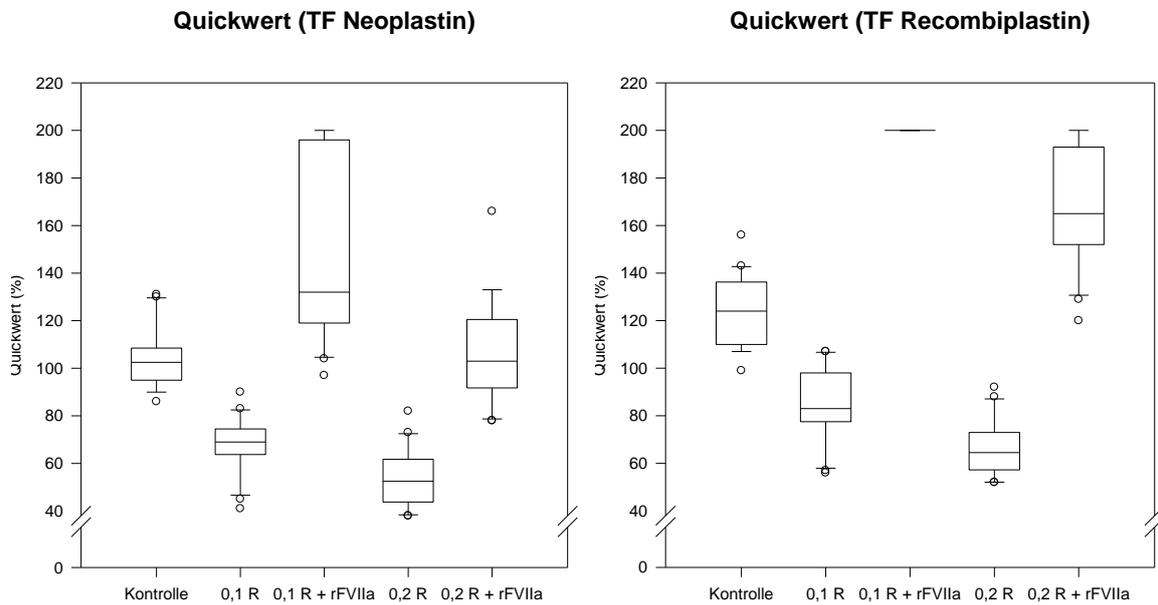


Abbildung 4.7 Antagonisierung von Rivaroxaban mit rFVIIa. Darstellung des Quickwertes (Tissue factor Neoplastin)

0,1 R=0,10 μ g/ml Rivaroxaban; 0,2 R=0,20 μ g/ml Rivaroxaban; +rFVIIa=Zugabe von 6300 μ g rFVIIa

Abbildung 4.8 Antagonisierung von Rivaroxaban mit rFVIIa. Darstellung des Quickwertes (Tissue factor Recombiplastin).

Die Messung 0,1 R + rFVIIa konnte vom Gerät nicht erfasst werden, da alle Quickwerte > 200 % waren. Näherungsweise ist deshalb der Median bei 200 % eingezeichnet.

0,1 R=0,10 μ g/ml Riva-roxaban;

0,2 R=0,20 μ g/ml Rivaroxaban; +rFVIIa=Zugabe von 6300 μ g rFVIIa

Faktor X

Faktor X erreichte weder in der Messung mit Recombiplastin, noch in der Messung mit Neoplastin als Tissue factor signifikante Veränderungen des Quickwertes (Daten nicht als Graphik aufgeführt).

4.2 Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT)

Die aktivierte partielle Thromboplastinzeit korrelierte deutlich mit der Rivaroxaban-Plasmakonzentration. Mit steigender Rivaroxaban-Plasmakonzentration nahm die aPTT zu. Der Spearman-Korrelationskoeffizient lag für die aPTT-SP bei $R=0,796$ ($p<0,000001$) und für die aPTT mit SynthASil-Reagenz (aPTT-SS) bei $R=0,776$ ($p<0,000001$). Für beide Testverfahren war die Korrelation nicht linear (siehe Abbildung 4.9 und Abbildung 4.10).

Jede Dosissteigerung von $0,5\mu\text{g/ml}$ Rivaroxaban bewirkte eine Zunahme der aPTT um durchschnittlich $5,6\text{sec}$ (aPTT-SP) bzw. $3,6\text{sec}$ (aPTT-SS). Auch hier konnte die Veränderung der Blutgerinnung besonders bei Konzentrationsänderungen im Bereich bis zu einer Rivaroxabankonzentration von $0,15\mu\text{g/ml}$ gemessen werden. Eine weitere Steigerung von Rivaroxaban auf $0,20\mu\text{g/ml}$ hatte besonders mit SynthASil-Reagenz (aPTT-SS) keinen nennenswerten Einfluss mehr auf die aPTT (im Mittel $0,01\text{sec}$).

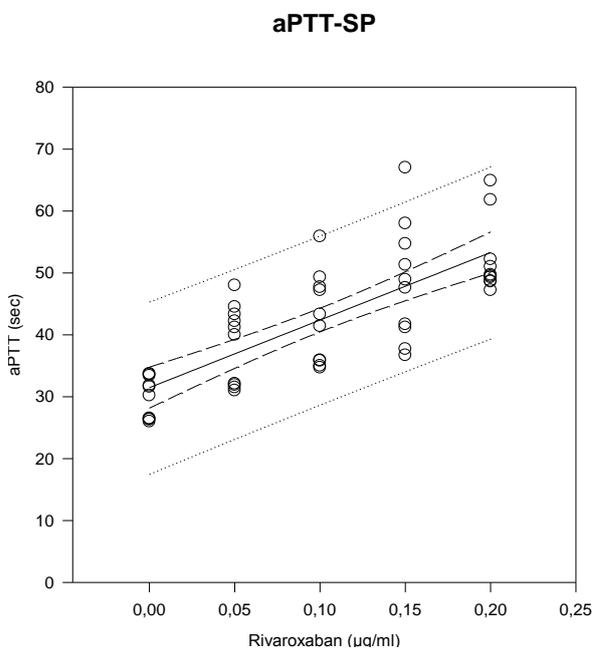


Abbildung 4.9 Einfluss von Rivaroxaban in verschiedenen Konzentrationen ($0,00\mu\text{g/ml}$ - $0,20\mu\text{g/ml}$) auf die aPTT-SP

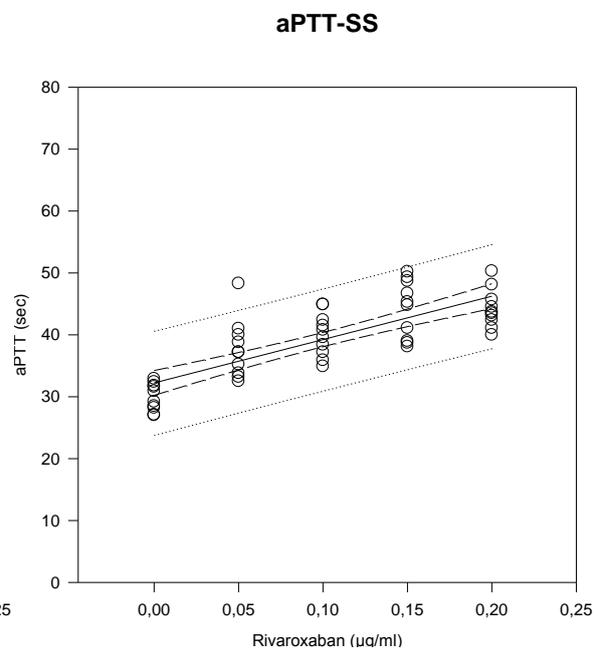


Abbildung 4.10 Einfluss von Rivaroxaban in verschiedenen Konzentrationen ($0,00\mu\text{g/ml}$ - $0,20\mu\text{g/ml}$) auf die aPTT-SS

PPSB

Es zeigte sich mit beiden verwendeten Reagenzien (aPTT-SS; aPTT-SP) keine statistisch signifikante Veränderung der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit nach Zugabe von PPSB. Die Tendenz einer Verlängerung der aPTT nach Zugabe von PPSB, die statistisch nicht signifikant war ($p > 0,05$), war jedoch zu erkennen (siehe Abbildung 4.11 und Abbildung 4.12).

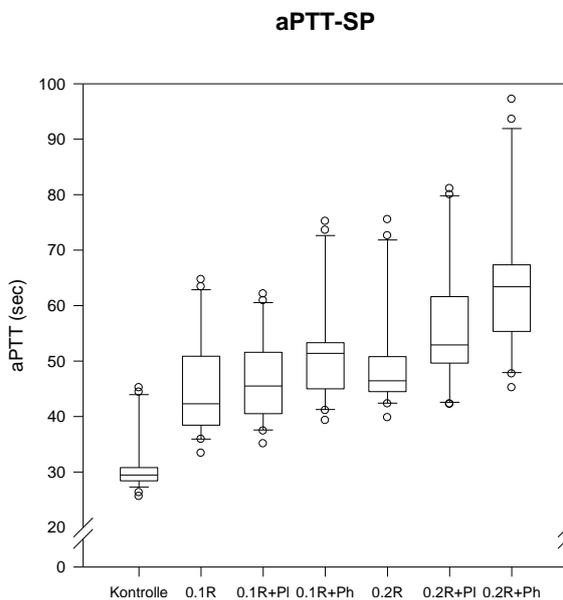


Abbildung 4.11 Antagonisierung von Rivaroxaban mit PPSB. Darstellung der aPTT-SP
 0,1 R=0,1 µg/ml Rivaroxaban; 0,2 R=0,2 µg/ml Rivaroxaban; PI=2188 IE PPSB; Ph=4376 IE PPSB

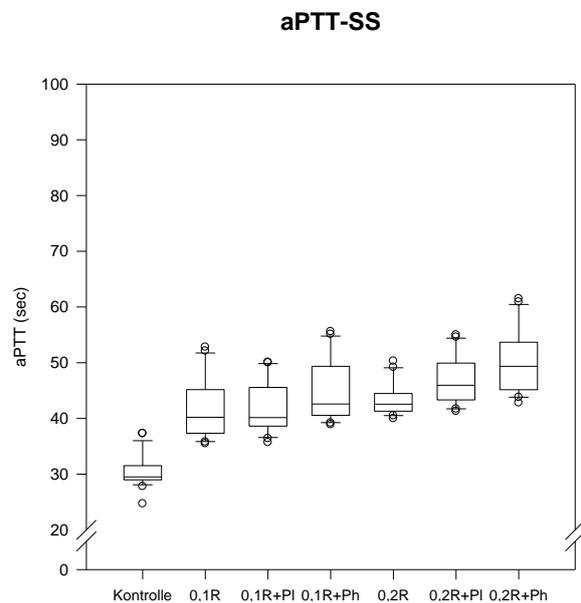


Abbildung 4.12 Antagonisierung von Rivaroxaban mit PPSB. Darstellung der aPTT-SS
 0,1 R=0,1 µg/ml Rivaroxaban; 0,2 R=0,2 µg/ml Rivaroxaban; PI=2188 IE PPSB; Ph=4376 IE PPSB

Feiba®

Die Antagonisierung mit Feiba® (aktiviertes Prothrombinkonzentrat) konnte durch die aPTT gut dargestellt werden (siehe Abbildung 4.13 und Abbildung 4.14).

Im Testansatz mit der niedrigen Konzentration Rivaroxaban ($0,10\mu\text{g/ml}$) zeigte sich eine Normalisierung der Gerinnung nach Zugabe von Feiba®. Bei der hohen Dosierung Rivaroxaban ($0,20\mu\text{g/ml}$) konnte Feiba® in der aPTT-SS eine Normalisierung, in der aPTT-SP eine Verkürzung der aPTT erreichen.

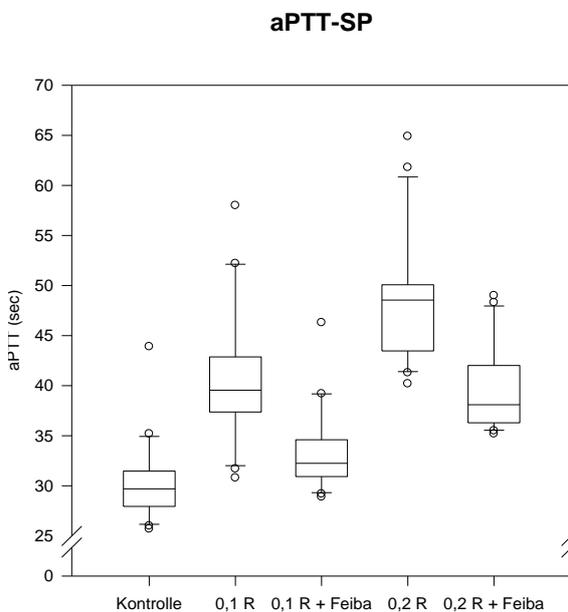


Abbildung 4.13 Antagonisierung von Rivaroxaban mit Feiba®. Darstellung der aPTT-SP

0,1 R= $0,10\mu\text{g/ml}$ Rivaroxaban; 0,2 R= $0,20\mu\text{g/ml}$ Rivaroxaban; +Feiba=Zugabe von 2100IE Feiba

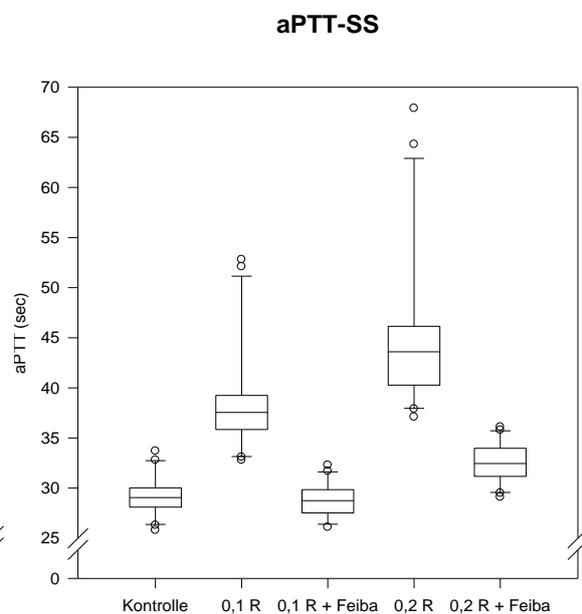


Abbildung 4.14 Antagonisierung von Rivaroxaban mit Feiba®. Darstellung der aPTT-SS

0,1 R= $0,10\mu\text{g/ml}$ Rivaroxaban; 0,2 R= $0,20\mu\text{g/ml}$ Rivaroxaban; +Feiba=Zugabe von 2100IE Feiba

NovoSeven®

Die aPTT zeigte mit beiden verwendeten Reagenzien (aPTT-SS; aPTT-SP) eine deutliche Verkürzung der aPTT nach Zugabe von rFVIIa (siehe Abbildung 4.15 und Abbildung 4.16).

Im Testansatz mit der niedrigen Dosierung Rivaroxaban (0,10 µg/ml) konnte durch rFVIIa eine vollständige Normalisierung des gemessenen Gerinnungswertes erreicht werden, wohingegen sich die Gerinnung im Testansatz mit der hohen Dosierung Rivaroxaban (0,20 µg/ml) zwar verbesserte, nicht aber normalisierte.

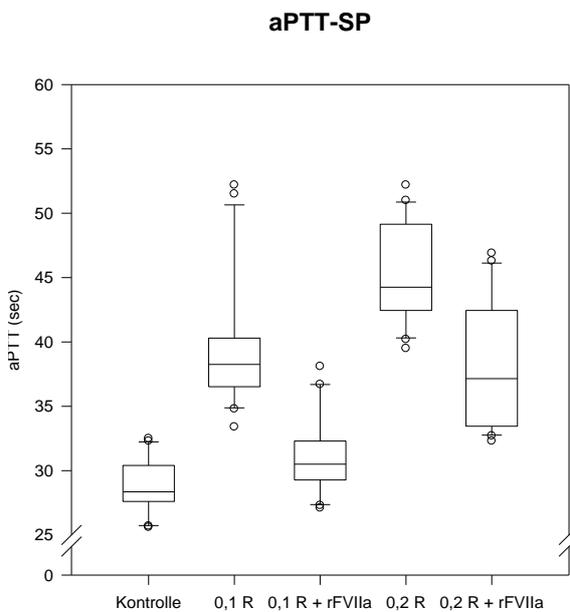


Abbildung 4.15 Antagonisierung von Rivaroxaban mit rFVIIa. Darstellung der aPTT-SP
0,1 R=0,10 µg/ml Rivaroxaban; 0,2 R=0,20 µg/ml Rivaroxaban; +rFVIIa=Zugabe von 6300 µg rFVIIa

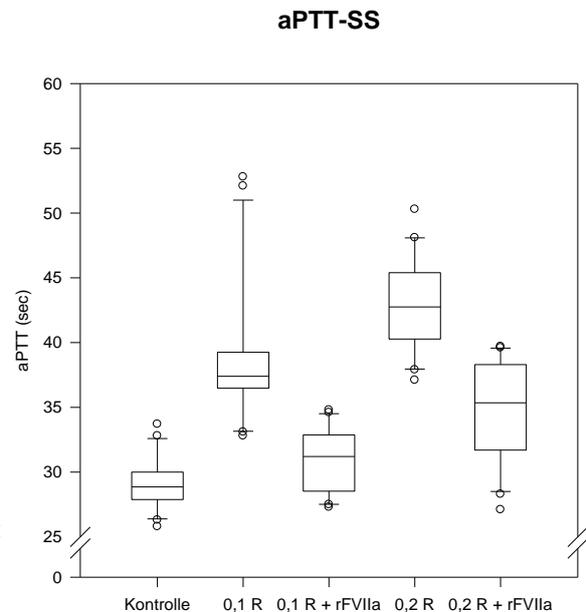


Abbildung 4.16 Antagonisierung von Rivaroxaban mit rFVIIa. Darstellung der aPTT-SS
0,1 R=0,10 µg/ml Rivaroxaban; 0,2 R=0,20 µg/ml Rivaroxaban; +rFVIIa=Zugabe von 6300 µg rFVIIa

Faktor X

Nach Zugabe von Faktor X (2026IE bzw. 4052IE) zu Plasma mit Rivaroxaban (0,10µg/ml bzw. 0,20µg/ml) konnte keine signifikante Verbesserung der in vitro Gerinnung gemessen werden. Es zeigte sich vielmehr eine signifikante Verlängerung der aPTT in beiden Testansätzen nach Zugabe von 4052IE Faktor X zu Rivaroxaban (0,10µg/ml und 0,20µg/ml) sowie nach Zugabe von 2026IE Faktor X zu Plasma mit 0,10µg/ml Rivaroxaban.

4.3 Thrombin dynamics test

Es zeigte sich eine negative Korrelation zwischen der Rivaroxaban-Plasmakonzentration und der Thrombindynamik mit extrinsischer Aktivierung (TDTex). Rivaroxaban bewirkte also eine konzentrationsabhängige Verminderung des TDT (siehe Abbildung 4.17 und Abbildung 4.18).

Der Spearman-Korrelationskoeffizient lag für den TDTex bei $R = -0,777$ ($p < 0,000001$) und für den TDT mit intinsischer Aktivierung (TDTin) bei $R = -0,525$ ($p = 0,0001$). Die Korrelation war nicht linear.

Jede Dosissteigerung von $0,5 \mu\text{g/ml}$ Rivaroxaban bewirkte im Mittel eine Abnahme des TDTex um 10% und des TDTin um 4,2% (Prozent bezeichnet hier die Einheit der Thrombindynamik).

Die Thrombindynamik mit extrinsischer Aktivierung reagierte somit deutlich stärker auf Dosisänderungen von Rivaroxaban als die Thrombindynamik mit intrinsischer Aktivität (siehe Abbildung 4.17 und Abbildung 4.18).

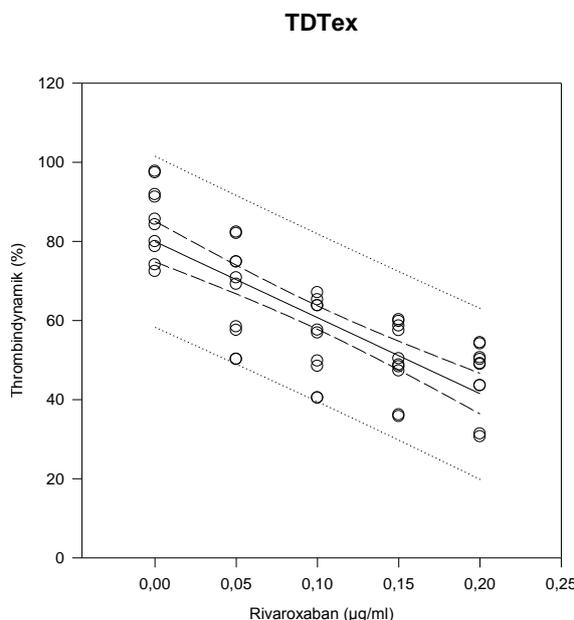


Abbildung 4.17 Einfluss von Rivaroxaban in verschiedenen Konzentrationen ($0,00 \mu\text{g/ml}$ - $0,20 \mu\text{g/ml}$) auf den TDTex

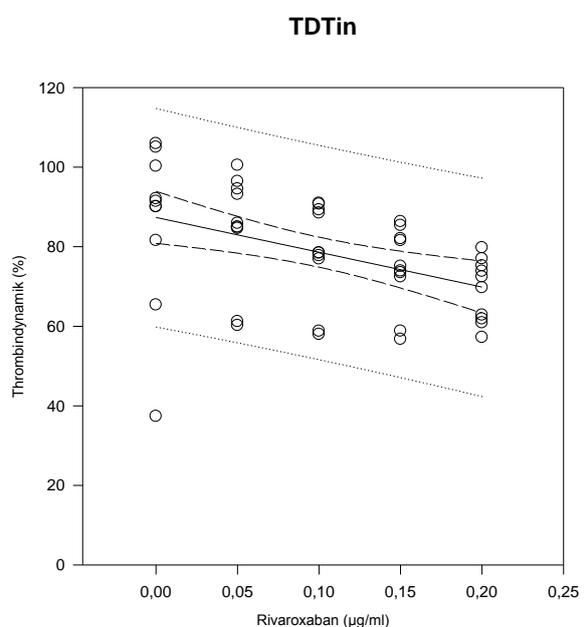


Abbildung 4.18 Einfluss von Rivaroxaban in verschiedenen Konzentrationen ($0,00 \mu\text{g/ml}$ - $0,20 \mu\text{g/ml}$) auf den TDTin

PPSB

Die Thrombindynamik mit extrinsischer Aktivierung zeigte im Testansatz mit der niedrigen Konzentration Rivaroxaban ($0,10\mu\text{g/ml}$) nach Zugabe von 4376 IE PPSB eine signifikante Zunahme der Thrombinbildung ($p < 0,05$).

Alle weiteren Ergebnisse der Thrombindynamik zeigten keine statistisch signifikanten Unterschiede nach Zugabe von PPSB ($p > 0,05$), jedoch war im TDTin eine Tendenz hin zur Normalisierung der Thrombinbildung nach Zugabe von PPSB in der hohen Konzentration (4376 IE) zu erkennen (siehe Abbildung 4.19 und Abbildung 4.20).

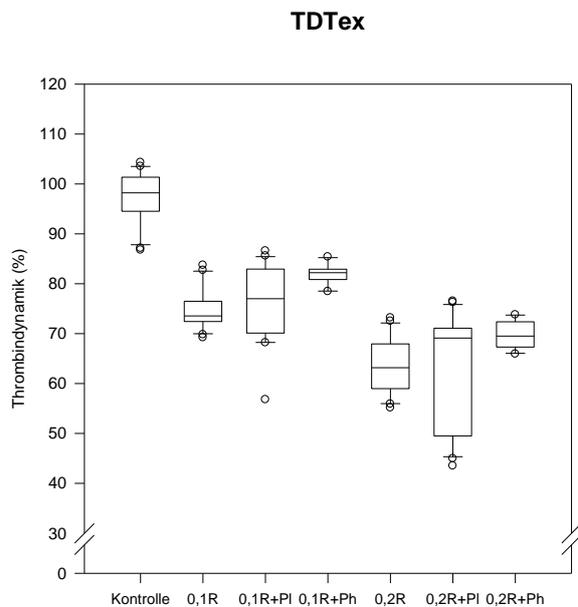


Abbildung 4.19 Antagonisierung von Rivaroxaban mit PPSB. Darstellung des TDTex
 0,1 R= $0,10\mu\text{g/ml}$ Rivaroxaban; 0,2 R= $0,20\mu\text{g/ml}$ Rivaroxaban; PI=2188 IE PPSB; Ph=4376 IE PPSB

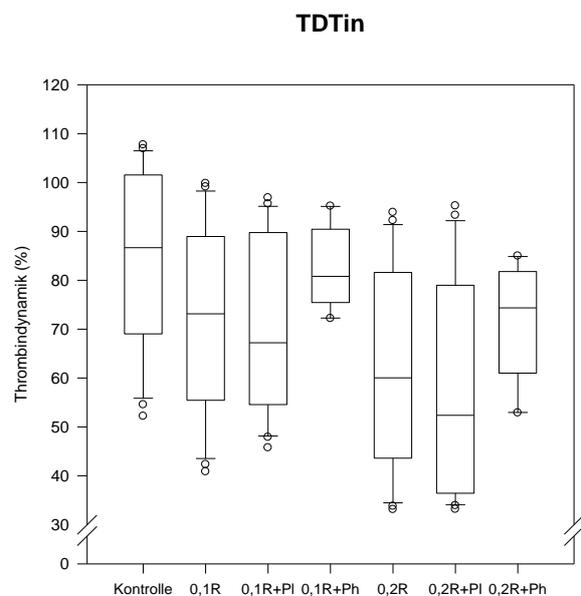


Abbildung 4.20 Antagonisierung von Rivaroxaban mit PPSB. Darstellung des TDTin
 0,1 R= $0,10\mu\text{g/ml}$ Rivaroxaban; 0,2 R= $0,20\mu\text{g/ml}$ Rivaroxaban; PI=2188 IE PPSB; Ph=4376 IE PPSB

Feiba®

In der Thrombindynamik mit extrinsischer Aktivierung wurde lediglich im Testansatz mit $0,10\mu\text{g/ml}$ Rivaroxaban und Feiba® eine signifikante Verbesserung der Thrombindynamik gegenüber des Leerwertes gemessen ($p < 0,05$). Die im Testansatz mit $0,20\mu\text{g/ml}$ Rivaroxaban gemessene Verbesserung des TDTex war statistisch nicht signifikant (siehe Abbildung 4.21). Im TDTin konnte für keine der beiden Rivaroxabankonzentrationen eine Verbesserung der in vitro Gerinnung nach Zugabe von Feiba® gemessen werden (siehe Abbildung 4.22).

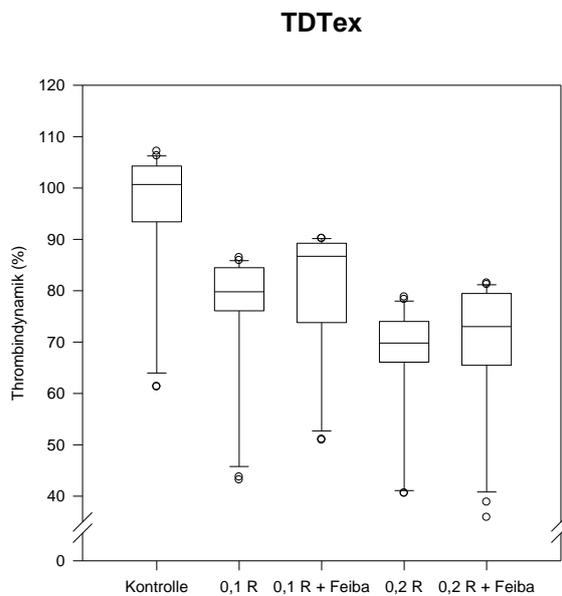


Abbildung 4.21 Antagonisierung von Rivaroxaban mit Feiba®. Darstellung des TDTex

0,1 R = $0,10\mu\text{g/ml}$ Rivaroxaban; 0,2 R = $0,20\mu\text{g/ml}$ Rivaroxaban; + Feiba = Zugabe von 2100 IE Feiba

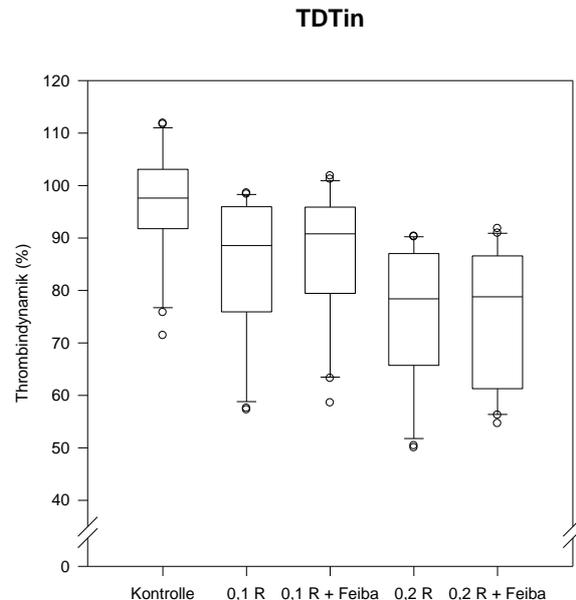


Abbildung 4.22 Antagonisierung von Rivaroxaban mit Feiba®. Darstellung des TDTin

0,1 R = $0,10\mu\text{g/ml}$ Rivaroxaban; 0,2 R = $0,20\mu\text{g/ml}$ Rivaroxaban; + Feiba = Zugabe von 2100 IE Feiba

rFVIIa

Im Thrombin dynamics test zeigte sich eine Tendenz, nicht aber eine signifikante Verbesserung der Gerinnung nach Zugabe von rFVIIa (siehe Abbildung 4.23 und Abbildung 4.24).

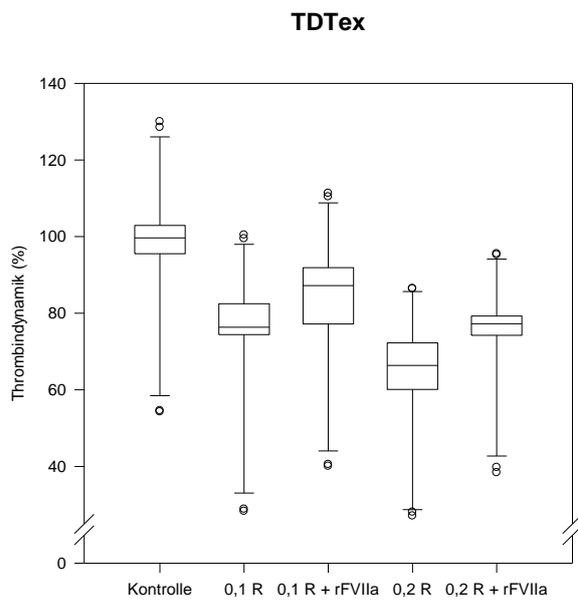


Abbildung 4.23 Antagonisierung von Rivaroxaban mit rFVIIa. Darstellung des TDTex
 0,1 R=0,10 μ g/ml Rivaroxaban; 0,2 R=0,20 μ g/ml Rivaroxaban; +rFVIIa=Zugabe von 6300 μ g rFVIIa

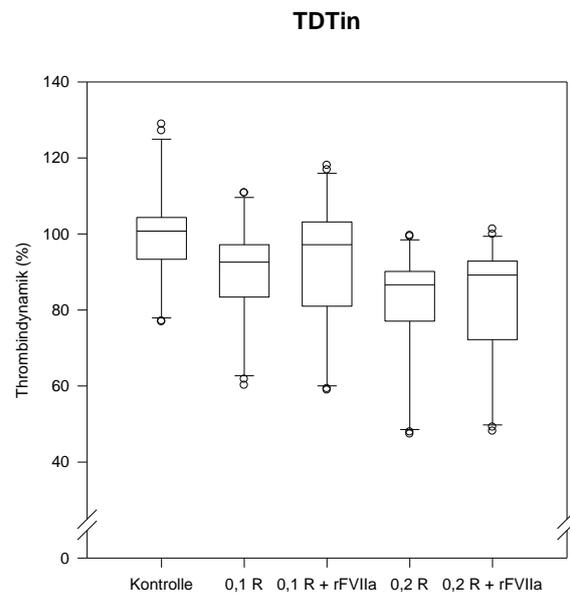


Abbildung 4.24 Antagonisierung von Rivaroxaban mit rFVIIa. Darstellung des TDTin
 0,1 R=0,10 μ g/ml Rivaroxaban; 0,2 R=0,20 μ g/ml Rivaroxaban; +rFVIIa=Zugabe von 6300 μ g rFVIIa

Faktor X

Durch die Zugabe von Faktor X zu Plasma mit Rivaroxaban (0,10 μ g/ml und 0,20 μ g/ml) konnte weder im TDTex, noch im TDTin eine statistisch signifikante Veränderung der in vitro Gerinnung gemessen werden.

4.4 Rotationsthrombelastometrie (ROTEM®)

In der Rotationsthrombelastometrie mit extrinsischer Aktivierung (EXTEM) zeigte sich eine positive, nicht lineare Korrelation zwischen Clotting time (CT) und Rivaroxaban-Plasmakonzentration. Der Spearman-Korrelationskoeffizient lag bei $R=0,954$ ($p<0,000001$).

Im Mittel verlängerte sich die Clotting time um 30,8 Sekunden pro Dosissteigerung von $0,05 \mu\text{g/ml}$ Rivaroxaban (siehe Abbildung 4.25).

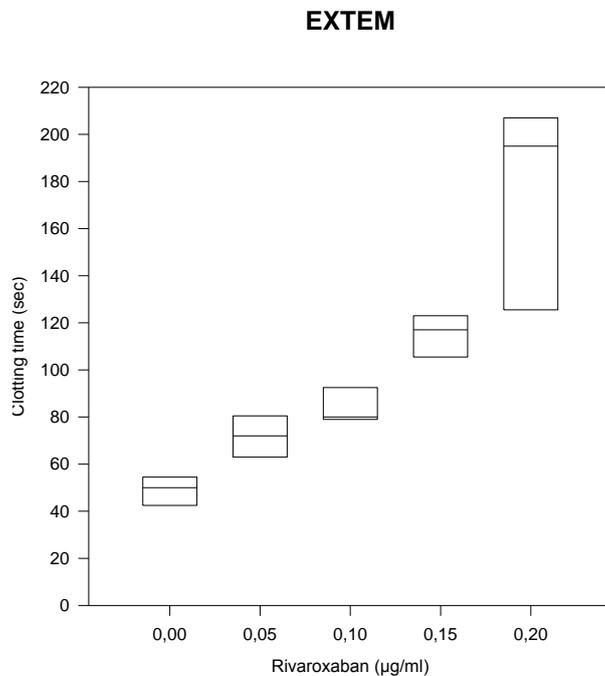


Abbildung 4.25 Einfluss von Rivaroxaban in verschiedenen Konzentrationen ($0,00 \mu\text{g/ml}$ - $0,20 \mu\text{g/ml}$) auf die Clotting time

PPSB

Die Clotting time zeigte keine signifikanten Veränderungen nach Zugabe von PPSB. Auch in der hohen Dosierung (4376 IE) konnte PPSB Rivaroxaban nicht messbar antagonisieren (Daten nicht als Graphik aufgeführt).

Feiba®

In der Rotationsthrombelastometrie mit extrinsischer Aktivierung (EXTEM) konnte im Testansatz mit der niedrigen Rivaroxaban-Dosierung (0,10 µg/ml) nach Zugabe von 2100 IE Feiba® eine Verkürzung der Clotting time (CT) gemessen werden ($p < 0,001$). Im Testansatz mit der hohen Konzentration Rivaroxaban (0,20 µg/ml) konnte Feiba® die CT nicht signifikant verkürzen ($p > 0,05$) (siehe Abbildung 4.26).

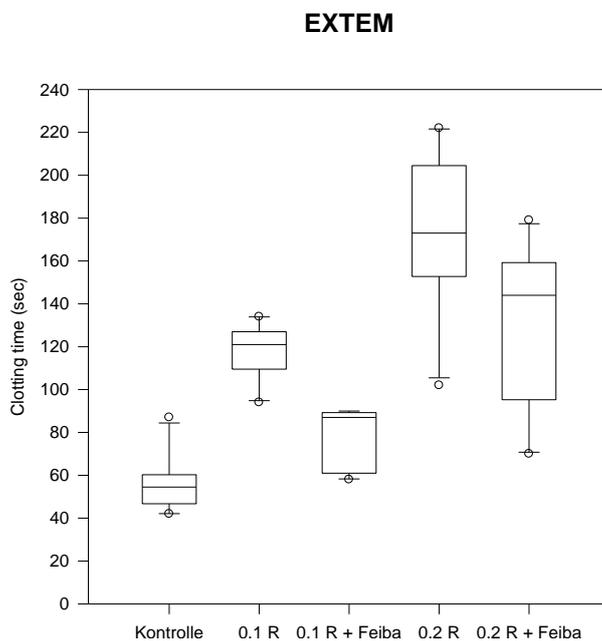


Abbildung 4.26 Antagonisierung von Rivaroxaban mit Feiba®.

Darstellung der Clotting time

0,1 R=0,10 µg/ml Rivaroxaban; 0,2 R=0,20 µg/ml Rivaroxaban;

+Feiba=Zugabe von 2100 IE Feiba

rFVIIa

Mithilfe der Rotationsthrombelastometrie mit extrinsischer Aktivierung (EXTEM) konnte für beide Rivaroxabankonzentrationen nach Zugabe von rFVIIa eine vollständige Normalisierung der Gerinnung gezeigt werden (siehe

Abbildung 4.27).

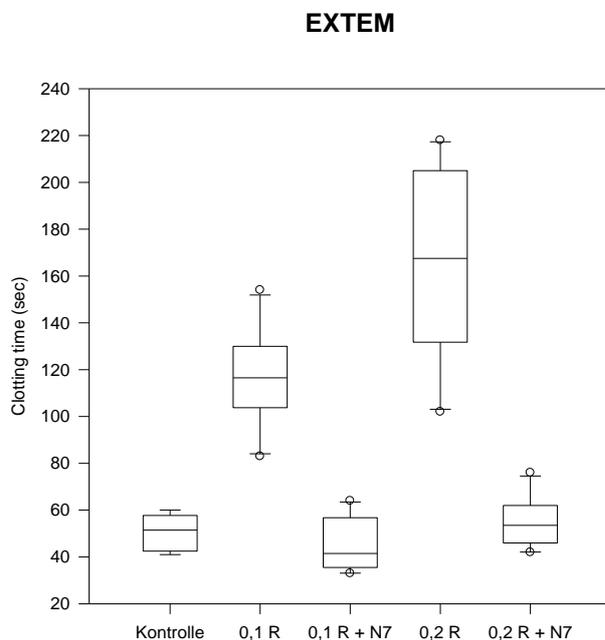


Abbildung 4.27 Antagonisierung von Rivaroxaban mit rFVIIa

Darstellung der Clotting time

0,1 R=0,10 µg/ml Rivaroxaban; 0,2 R=0,20 µg/ml Rivaroxaban;

+rFVII=Zugabe von 6300 µg rFVIIa

Faktor X

In der ROTEM®-Analyse (EXTEM) konnte keine Verbesserung der in vitro Gerinnung nach Zugabe von Faktor X gemessen werden.

4.5 Anti-Faktor Xa-Aktivität

Mithilfe der Anti-Faktor Xa-Aktivität konnte die Rivaroxabankonzentration bestimmt werden, wobei die gemessenen Konzentrationen im Mittel um 9,9 ng/ml (min. 0,48 ng/ml; max. 25,7 ng/ml) von der tatsächlichen Rivaroxabankonzentration abwichen.

Der Spearman-Korrelationskoeffizient lag bei $R=0,783$ ($p<0,000001$). Die Korrelation war nicht linear.

Messungen zur Veränderung der Hämostase nach Antagonisierung von Rivaroxaban mithilfe der Anti-Faktor Xa-Aktivität wurden nicht durchgeführt. Der Test stellt nicht die Wirkung von Rivaroxaban auf die Blutgerinnung dar, sondern misst die vorhandene Rivaroxabankonzentration. Somit kann auch nach Antagonisierung keine Änderung der Testergebnisse bei gleichbleibendem Rivaroxaban-Spiegel aufgezeigt werden.

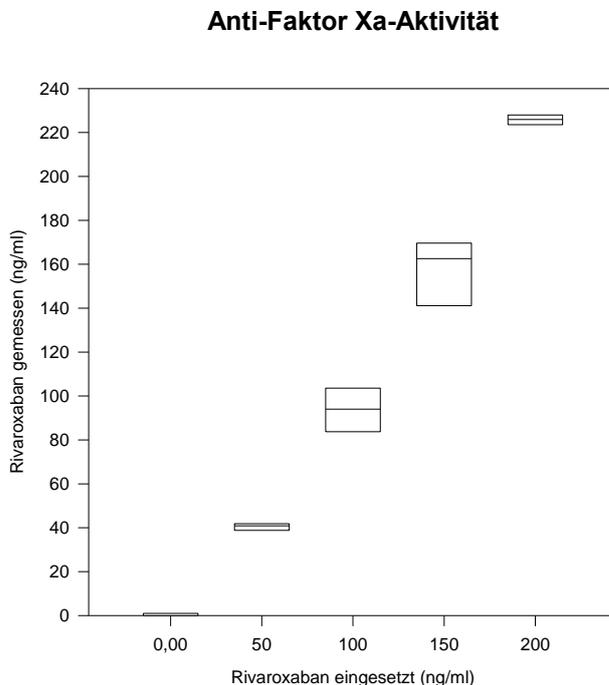


Abbildung 4.28 Gemessene Konzentration Rivaroxaban (ng/ml) unter Verwendung von Rivaroxabankalibratoren und -kontrollen und tatsächliche Rivaroxabankonzentration im Plasma (0 ng/ml - 200 ng/ml)

5 Diskussion

Rivaroxaban bietet gegenüber den gängigen Medikamenten zur Blutverdünnung zahlreiche Vorteile wie eine orale Substitution, eine hohe Bioverfügbarkeit, eine große therapeutische Breite sowie eine nur unerhebliche Beeinflussung durch Nahrungsmittel oder Medikamente [24, 39]. Unter der Einnahme von Rivaroxaban ist im ambulanten Setting keine routinemäßige Überwachung der Blutgerinnung erforderlich [40-42]. In Anbetracht dieser Vorteile und der überzeugenden Datenlage ist davon auszugehen, dass auch weiterhin Vitamin-K-Antagonisten und NMH in vielen Fällen durch die direkten oralen Antikoagulanzen ersetzt werden [55, 176, 177].

Dennoch sind für den klinischen Alltag nach wie vor besonders zwei Fragen zu klären: Erstens wie kann der Rivaroxabanspiegel in Notfallsituationen bzw. bei komplexen Patienten und perioperativ schnell und zuverlässig gemessen werden? Zweitens, wie kann Rivaroxaban im Notfall schnell antagonisiert werden? Diese Fragen sind mit der Entwicklung der Anti-Faktor Xa-Aktivität unter Verwendung von Rivaroxabankalibratoren und -kontrollen und der Zulassung von Andexanet alfa (AndexXa®) als spezifisches Antidot für Rivaroxaban und Apixaban nur teilweise beantwortet. Die Anti-Faktor Xa-Aktivität ist nicht in jedem Labor und zu jeder Zeit verfügbar. Eine Antagonisierung von Rivaroxaban mit Andexanet alfa ist im Vergleich zu gängigen Gerinnungsfaktoren wie PPSB sehr kostenintensiv und ist bei weitem nicht flächendeckend vorhanden [144, 166]. Somit ist es weiterhin wichtig, die verfügbaren Alternativen für Monitoring und Antagonisierung von Rivaroxaban zu evaluieren, bis die oben genannten Alternativen voll etabliert und flächendeckend verfügbar sind.

In dieser Studie wurden verschiedene laborchemische Monitoringverfahren evaluiert, um die Rivaroxabanspiegel in speziellen Situationen möglichst genau abbilden zu können. Außerdem testeten wir verschiedene Antagonisten hinsichtlich ihres Potenzials, Rivaroxaban zu antagonisieren.

Die von uns gewählten Rivaroxaban-Plasmakonzentrationen stützen sich auf veröffentlichte Studien, die die Rivaroxabanspiegel bei ein- bis zweimal täglicher Einnahme unterschiedlicher Rivaroxabandosierungen untersuchten [93, 126, 168, 178-182]. Hierbei

wählten wir unsere Rivaroxabankonzentrationen entsprechend den Angaben der Plasmaspiegel nach Einnahme von 10 bzw. 20 mg Rivaroxaban für mindestens fünf Tage. Die Dosierung von 2,5 mg zur Prophylaxe atherothrombotischer Ereignisse bei Patienten mit KHK, symptomatischer pAVK oder nach einem akuten Koronarsyndrom war zu diesem Zeitpunkt noch nicht zugelassen [54, 57] und wurde von uns nicht berücksichtigt.

Eine Schwäche unserer Studie ist dabei sicherlich die begrenzte Probandenzahl von $n=10$. Außerdem führten wir unsere Versuche ausschließlich *in vitro* durch. Wie in einigen anderen Studien auch [129, 172, 173], lösten wir Rivaroxaban und Faktorkonzentrate in DMSO. In einer Versuchsreihe von $n=5$ konnten wir keinen Einfluss von DMSO auf die Gerinnungstests feststellen, es gibt jedoch Studien, die hier zu einem anderen Ergebnis kommen [26, 183].

5.1 Laborchemisches Monitoring von Rivaroxaban

Die von uns eingesetzten Globalgerinnungstests Quickwert (Prothrombinzeit, PT) und aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT), die in jeder Klinik routinemäßig rund um die Uhr verfügbar sind, zeigten eine konzentrationsabhängige Verlängerung nach Zugabe von Rivaroxaban. Wie auch in der Literatur beschrieben [41, 102, 184, 185], zeigte diese Verlängerung auch in unserer Studie keine lineare Dosis-Wirkungs-Beziehung.

Für den Quickwert setzten wir sowohl Recombiplastin als auch Neoplastin als Thromboplastinreagenz (sog. Tissue factor oder Gewebefaktor) ein. Die unterschiedlichen Reagenzien variieren deutlich hinsichtlich ihrer Sensitivität für Rivaroxaban [168]. Neoplastin wird in Studien insgesamt als sensitiver gegenüber einer Antikoagulation mit Rivaroxaban eingestuft als Recombiplastin [95, 104, 106] und soll den Effekt von Rivaroxaban bei Konzentrationen von $0,05-0,70 \mu\text{g/ml}$ messen können [4]. Dies konnten wir in unserer Studie nicht bestätigen. Obwohl sich die Werte ab einer Zugabe von $0,10 \mu\text{g/ml}$ Rivaroxaban signifikant vom Leerwert unterschieden, lagen sie teilweise auch bei dieser Konzentration noch im Normbereich. Samama et al. [103] empfehlen hier die Erstellung einer Referenzkurve für jedes einzelne Thromboplastinreagenz und

Labor, um so den gerinnungshemmenden Effekt von Rivaroxaban in $\mu\text{g/ml}$ statt als Prothrombinzeit in Sekunden darstellen zu können.

Die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) wurde in dieser Studie mit zwei Testansätzen (aPTT-SS und aPTT-SP) eingesetzt. Insgesamt war der Einfluss von Rivaroxaban auf die aPTT schwächer als auf den Quickwert. Damit konnten wir die Ergebnisse anderer Studien bestätigen [4, 103, 104, 106]. Wie auch in einer Studie von van Blerk et al. [104] zeigte sich in unserer Studie aPTT-SP gegenüber der aPTT-SS überlegen. Auch bei der aPTT lagen bei beiden Testansätzen die Messergebnisse bei einer Rivaroxabankonzentration von $0,10\mu\text{g/ml}$ teilweise noch im Normbereich, obwohl sie sich signifikant vom Leerwert unterschieden.

Insgesamt können die Absolutwerte von Quickwert und aPTT nicht im Sinne einer klinischen Wirkungskorrelation oder eines Blutungsrisikos ausgelegt werden [41] und stellen in Notfallsituationen keine zuverlässige Möglichkeit zur Kontrolle des Rivaroxabanspiegels dar. Lediglich können normale Werte von Quickwert und aPTT meist eine hohe Plasmakonzentration von Rivaroxaban ausschließen [186], klinisch relevante niedrige Rivaroxaban(tal-)spiegel werden in der Regel jedoch nicht erfasst [99]. Außerdem hat bei diesen Gerinnungstests die Wahl des Startreagenz erheblichen Einfluss auf die Messergebnisse, weshalb die Ergebnisse verschiedener Labore nicht automatisch vergleichbar sind [136, 185, 187].

Als weitere Methode zur Bestimmung der antikoagulatorischen Wirkung von Rivaroxaban testeten wir in dieser Studie den Thrombin dynamics test (TDT) sowohl mit extrinsischer (TDTex) als auch mit intrinsischer (TDTin) Aktivierung. Hier bildete der TDT mit extrinsischer Aktivierung eine deutlichere Dosis-Wirkungs-Beziehung ab als der TDTin. Die Dosis-Wirkungs-Beziehung war jedoch in beiden Fällen nicht linear. Nach unserer Kenntnis gibt es bisher keine Studien, die den Einfluss der Rivaroxaban-Plasmakonzentration auf den Thrombin dynamics test, also auf die Thrombingenerierung mithilfe eines „schnellen“ Thrombinsubstrates untersuchten. Da der Thrombin dynamics test durch die Verwendung dieses „schnellen“ Thrombinsubstrates die in vivo-Situation besser abbilden kann [107], könnte er auch den Einfluss der Rivaroxabankonzentration auf die physiologische Thrombinbildung besser darstellen als die her-

kömmliche Thrombingenerierung unter Einsatz eines „langsamen“ Thrombinsubstrates. In einigen Studien wurde der Einfluss der Rivaroxabankonzentration auf die Thrombingenerierung unter Einsatz eines „langsamen“ Thrombinsubstrates untersucht, wobei ein dosisabhängiger Zusammenhang des Rivaroxabanspiegels mit der Thrombingenerierung gezeigt werden konnte [4, 95, 116, 117].

Insgesamt kann auch der Thrombin dynamics test nach unseren Ergebnissen nicht zur Quantifizierung der Rivaroxaban-Plasmakonzentration empfohlen werden. Er ist nur in Speziallabors verfügbar und kann geringe Änderungen der Rivaroxabankonzentration nicht zuverlässig erfassen, könnte also wie die aPTT und besonders der Quickwert nur als grobe Orientierungshilfe bei hohen Rivaroxabankonzentrationen dienen.

Auch die Rotationsthrombelastometrie (ROTEM®) in Vollblut ist nicht ohne Einschränkung zur Quantifizierung der Rivaroxaban-Plasmakonzentration zu empfehlen, bietet aber deutliche Vorteile gegenüber den herkömmlichen plasmatischen Gerinnungstests.

In dieser Studie konnten wir die Ergebnisse einiger in vivo Studien [123, 188] bestätigen, dass die Rotationsthrombelastometrie mit extrinsischer Aktivierung (EXTEM®) den Effekt der Rivaroxaban-Plasmakonzentration auf die Blutgerinnung besser widerspiegelt als die Rotationsthrombelastometrie mit intrinsischer Aktivierung (INTEM). Wie auch bei Quickwert, aPTT und TDT beobachtet, kann EXTEM® Rivaroxaban zwar qualitativ bestimmen, also einen deutlichen Effekt auf die Blutgerinnung detektieren, eine quantitative Bestimmung des genauen Rivaroxabanspiegels oder geringer Rivaroxabankonzentrationen ist jedoch nicht möglich [93]. Um die Rivaroxabankonzentration auch bei geringen Plasmaspiegeln mittels ROTEM® quantifizieren zu können, empfehlen u.a. Adelman et al. [183] die Verwendung eines lowTF-Rotem®, bei dem der Tissue factor Anteil im EXTEM®-Reagenz verringert wurde. Mit dieser Methode konnte die Rivaroxabanwirkung mit guter Sensitivität und Spezifität gemessen werden [189].

Da die Rotationsthrombelastometrie als Point-of-care Methode den großen Vorteil der schnellen Verfügbarkeit bietet, kann sie jedoch auch in nicht modifizierter Form in kritischen Situationen eine erste Orientierungshilfe bieten.

Die Anti-Faktor Xa-Aktivität mit Rivaroxabankalibratoren und -kontrollen konnte als speziell für die Bestimmung von Rivaroxaban entwickelte Methode in dieser Studie die Rivaroxaban-Plasmakonzentration gut abbilden. Die Ergebnisse unterschieden sich erst ab einem Konzentrationsunterschied von 15 ng/ml statistisch signifikant voneinander. Dies liegt wahrscheinlich an der begrenzten Zahl von 10 Probanden in dieser Studie. Die Ergebnisse in der Literatur zeigen durchweg eine gute Darstellung der Rivaroxabankonzentration durch die Anti-Faktor Xa-Aktivität mit Rivaroxabankalibratoren und -kontrollen [43, 99, 190]. Jedoch wird in vielen Studien darauf hingewiesen, dass Plasmaproben mit sehr niedrigen (<30 ng/ml) oder sehr hohen (>350 ng/ml) Rivaroxabankonzentrationen eine nur geringe Korrelation mit der Anti-Faktor Xa-Aktivität [130, 190, 191] und eine deutlich erhöhte Bias [43] aufweisen. Trotzdem stellt die Anti-Faktor Xa-Aktivität die bisher beste verfügbare Methode zur Bestimmung der Rivaroxaban-Plasmakonzentration dar [4, 95, 96]. Wird jedoch bei einem Patienten Rivaroxaban antagonisiert, sollte dringend auf andere Gerinnungstests zurückgegriffen werden. Die Anti-Faktor Xa-Aktivität misst die vorhandene Rivaroxabankonzentration im Plasma und stellt nicht die Wirkung von Rivaroxaban auf die Blutgerinnung dar. Somit ist auch nach Antagonisierung keine Änderung der Testergebnisse bei gleichbleibendem Rivaroxabanspiegel zu erwarten. Mögliche Alternativen zur Messung der Gerinnung nach Antagonisierung sind z.B. EXTEM® und Quickwert, jedoch kann kein Gerinnungstest die Blutungstendenz sicher vorhersagen [125].

5.2 Antagonisierung

Prothrombinkomplexpräparat (PPSB) wird von vielen Autoren zur Behandlung von Patienten mit Blutungskomplikationen unter Rivaroxabantherapie empfohlen [141, 148, 156, 160]. Ein großer Vorteil von PPSB ist sicherlich, dass es überall verfügbar ist, eine geringe Rate an thrombembolischen Komplikationen bei üblichen Dosierungen aufweist [149] und in Notfallsituationen ein relativ breites Spektrum an Blutungsursachen abdecken kann. Es ist für Patienten zur schnellen Antagonisierung von Vitamin-K-Antagonisten zugelassen [145, 147] und wird teilweise auch für Patienten mit unklaren Blutungskomplikationen ohne vorbestehende Koagulopathie empfohlen [192-194].

In dieser Studie konnte PPSB lediglich in hoher Dosierung (4376 IE) nach Zugabe zu Plasma mit 0,10 µg/ml Rivaroxaban im Thrombin dynamics test mit extrinsischer Aktivierung eine vollständige Normalisierung der Blutgerinnung erreichen. Alle anderen von uns verwendeten Messverfahren zeigten nach Zugabe von PPSB keine signifikante Verbesserung der Blutgerinnung. Diese Ergebnisse decken sich mit anderen in vitro Studien der Literatur. Korber et al. [93] und Dinkelaar et al. [195] konnten ebenfalls keine signifikante Verbesserung der Blutgerinnung nach Zugabe von PPSB feststellen. In verschiedenen anderen in vitro Studien konnte PPSB die Blutgerinnung in Plasma von Patienten unter Rivaroxabantherapie [95], bzw. in Plasma, dem Rivaroxaban zugesetzt wurde [124, 136] signifikant verbessern, jedoch nicht normalisieren.

Im Tiermodell erreichte PPSB keine [196], bzw. nur eine inkomplette Normalisierung [156] der Blutungszeit. Eerenberg et al. [141] beobachteten in einer Studie an gesunden Freiwilligen, die 2 x 20 mg Rivaroxaban einnahmen, eine komplette und sofortige Normalisierung der Blutgerinnung nach der Gabe von 50 IE/kg PPSB. Auch bei Patienten, die unter Rivaroxabantherapie schwere Blutungen erlitten, konnten in Studien mit 35 IE/kg [144], bzw. 2000 IE [140, 149] PPSB eine deutliche Verbesserung der Blutgerinnung erzielt werden.

Die Ergebnisse verschiedener Gerinnungstests und die tatsächliche Klinik können jedoch divergieren. Gerinnungstests als artifizielle Systeme können leicht durch eine Substanz gestört werden und so die tatsächliche Klinik mitunter nur unzureichend abbilden [136, 197]. Die Korrelation zwischen tatsächlicher Verringerung einer Rivaroxaban assoziierten Blutung und Normalisierung von Gerinnungsparametern wie EXTEM und Quickwert nach Antagonisierung wird in verschiedenen Studien als nur gering angegeben [197, 198].

Diese sehr unterschiedlichen Ergebnisse lassen keine uneingeschränkte Empfehlung von PPSB zur Antagonisierung von Rivaroxaban zu. Wenn Andexanet alfa nicht zur Verfügung steht, stellt die Gabe von PPSB aber eine mögliche Alternative dar (off-label).

Aktiviertes Prothrombinkonzentrat (Feiba®) enthält die Faktoren II, IX und X in überwiegend inaktiver Form, sowie Faktor VII in überwiegend aktivierter Form [151], hat also theoretisch den Vorteil, dass es die Eigenschaften von PPSB und rFVIIa vereint

[154]. Feiba® wird von einigen Autoren als überlegen gegenüber PPSB und rFVIIa eingestuft und –sollte kein spezifisches Antidot zur Verfügung stehen– zur Antagonisierung von Rivaroxaban empfohlen [154, 199, 200].

In dieser Studie bewirkten 2100 IE Feiba® nach Zugabe zu Plasma mit niedriger Rivaroxabankonzentration (0,10 µg/ml) in fast allen Messverfahren eine Normalisierung der Gerinnung, während in Plasma mit hoher Rivaroxabankonzentration (0,20 µg/ml) eine Verbesserung, jedoch keine Normalisierung der Blutgerinnung erreicht werden konnte. Die laut Packungsbeilage empfohlene Dosierung von Feiba® beträgt je nach Indikation 50-100 IE/kg KG [151]. Dagegen war unsere Dosierung von Feiba® mit 2100 IE (\approx 30 IE/kg KG) im Vergleich zu vielen Studien relativ gering. Dies könnte die nur teilweise Antagonisierung bei 0,20 µg/ml Rivaroxaban erklären. Herrmann et al. [95] konnten mit einer ähnlich geringen Dosis von 1750 IE Feiba® in Plasma von Probanden, die täglich 10 mg Rivaroxaban einnahmen auch lediglich eine Verbesserung, nicht aber eine Normalisierung u.a. der Gerinnungsparameter Quickwert und aPTT erreichen. Escolar et al. [124] erreichten mit einer Dosierung von 75 IE/kg in vitro eine komplette Antagonisierung der Rivaroxabanwirkung. Ebenso konnten Marlu et al. [154] in einer Studie an gesunden Probanden, die 2x20mg Rivaroxaban erhielten, eine komplette Normalisierung der Blutgerinnung zwei Stunden nach der Gabe von 80 IE/kg Feiba® beobachten. Perzborn et al. [156] verringerten im Tiermodell bei Ratten, die mit 2 mg/kg Rivaroxaban i.v. behandelt worden waren, mit 50 IE/kg Feiba® die Blutungszeit signifikant. Eine weitere Steigerung der Feiba®-Dosis auf 100 IE/kg konnte keine weitere signifikante Verbesserung der Blutungszeit erreichen. Da eine Steigerung der Feiba®-Dosis die Gefahr der thrombembolischen Konzentrationen erhöhen könnte, sollte dies sorgfältig abgewogen werden. Dennoch ist die Inzidenz thrombembolischer Komplikationen mit 4 pro 100 000 Feiba®-Infusionen relativ gering [201].

Feiba® stellt eine mögliche Alternative (off-label) zur Antagonisierung von Rivaroxaban bei lebensbedrohlichen Blutungskomplikationen dar, falls Andexanet alfa (AndexXa®) nicht zur Verfügung steht.

Das für unsere Experimente verwendete **Faktor X Präparat** (Faktor X® P; CSL Behring) enthält die humanen Gerinnungsfaktoren X und IX [175]. In keinem unserer Expe-

perimente konnten wir in Plasma mit Rivaroxaban mithilfe von Faktor X eine Verbesserung der Blutgerinnung erreichen. Die Verlängerung der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit nach Zugabe von Faktor X lässt sich am ehesten durch das in Faktor X Präparat enthaltene Heparin erklären. Nach unserer Kenntnis gibt es keine Studien, die eine Antagonisierung von Rivaroxaban mit einem Faktor X Präparat untersuchten. Jedoch ist seit Mai 2018 mit Andexanet alfa (AndexXa®) ein rekombinanter, modifizierter Faktor X auf dem Markt [166]. Dieser bindet an Faktor Xa-Inhibitor im Blut, ohne selbst direkt Einfluss auf die Blutgerinnung zu nehmen [19, 165].

Warum Faktor X Präparat in dieser Studie keinerlei Wirkung auf die Blutgerinnung zeigte, konnten wir nicht abschließend klären. Vermutlich konnte Rivaroxaban auch den zugeführten Faktor X so weit hemmen, dass dieser keinen Einfluss mehr auf die Gerinnung nehmen konnte. Die von uns verwendete Faktor X Dosierung betrug 2027 IE. Höhere Dosierungen werden vom Hersteller nur bei unkontrollierbaren Blutungen bei Patienten mit Faktor X Mangel empfohlen und gehen mit einem potenziell erhöhten Risiko thrombembolischer Komplikationen einher [175].

Rekombinanter Faktor VIIa (rFVIIa, Novo Seven®) aktiviert FX und FIX und führt so zu einer massiven Thrombingenerierung (sog. „thrombin burst“) [157, 202]. Die Hemmung von FX durch Rivaroxaban beeinträchtigt jedoch die Blutgerinnung nach diesem Schritt und wird von rFVIIa somit nur indirekt beeinflusst [152]. Trotzdem zeigte sich rFVIIa in dieser Studie als potenter Antagonist von Rivaroxaban. Bei einer Dosierung von 90 µg/kg rFVIIa konnte mit aPTT, EXTEM und Quickwert eine Normalisierung oder signifikante Verbesserung der Blutgerinnung gemessen werden. Im Quickwert mit Recombiplastin als Tissue factor zeigte sich sogar eine massive Überkorrektur gegenüber dem Leerwert. Auch in einer Studie von Escolar et al. [124] konnte rFVIIa die Wirkung von Rivaroxaban in vitro komplett antagonisieren, wobei auch hier in einigen Tests eine signifikante Überkorrektur erreicht wurde. In Untersuchungen, bei denen gesunde Freiwillige einmal täglich 20 mg Rivaroxaban erhielten, konnte rFVIIa die Rivaroxabanwirkung im Plasma dieser Patienten ebenfalls antagonisieren, wobei auch hier eine Überkorrektur einiger Werte beobachtet wurde [154, 203]. Dies wirft die Frage auf, inwieweit diese Überkorrektur nach der Gabe von rFVIIa auf ein erhöhtes

Thromboembolierisiko hinweist. Die Zahl der thrombembolischen Komplikationen wird in Studien mit bis zu 9% der Patienten angegeben, die rFVIIa zur Behandlung unkontrollierbarer Blutungen erhielten [158]. Die Behandlung von unkontrollierbaren Blutungen mit rFVIIa bei Patienten ohne Hämophilie ist außerdem nach wie vor off-label [164].

Im Tiermodell konnte rFVIIa durch Rivaroxaban ausgelöste Blutungen bei Ratten signifikant reduzieren [156]. Jedoch waren die Dosierungen von rFVIIa mit 400 µg/kg deutlich höher als in unserer Studie. Dosierungen von 210 µg/kg bei Pavianen und 100 µg/kg bei Ratten reduzierten die Blutungszeit zwar, die Ergebnisse waren jedoch nicht signifikant. Zugelassen sind Dosierungen von bis zu 270 µg/kg [159], und bei höheren Dosierungen ist das Thromboembolierisiko potenziell erhöht.

Auch wenn rFVIIa die Wirkung von Rivaroxaban in einigen Studien (s.o.) gut antagonisieren konnte, kann eine Gabe von rFVIIa aufgrund fehlender in vivo Daten und einem erhöhten Thromboembolierisiko im klinischen Alltag nicht generell zur Antagonisierung von Rivaroxaban empfohlen werden [204].

Im Mai 2018, deutlich nach Abschluss unserer Untersuchungen, wurde Andexanet alfa (AndexXa®) als spezifischer Antagonist der direkten Faktor Xa-Inhibitoren Rivaroxaban und Apixaban zugelassen [166]. Andexanet alfa ist sehr teuer, birgt auch ein Risiko thrombembolischer Komplikationen und ist nicht flächendeckend vorhanden [144, 166]. Außerdem sollte die Rate thrombembolischer Komplikationen von bis zu 18% bei der Entscheidung für die Gabe von Andexanet alfa berücksichtigt werden [135, 166].

Die Anti-Faktor Xa-Aktivität mit Rivaroxabankalibratoren und -kontrollen wird von vielen Autoren als eine sehr zuverlässige Methode zur Bestimmung der Rivaroxaban-Plasmakonzentration empfohlen [205, 206]. Mit einer schlechten Korrelation bei sehr niedrigen oder hohen Rivaroxabanspiegeln [207] und der fehlenden Möglichkeit, eine Antagonisierung zu messen, weist auch die Anti-Faktor Xa-Aktivität Einschränkungen auf. In Notfallsituationen bietet die Rotationsthrombelastometrie mit extrinsischer Aktivierung (EXTEM) als Point-of-care Methode eine Orientierungshilfe der Rivaroxabanwirkung [183]. Aktivierte partielle Thromboplastinzeit, Thrombin dynamics test und

besonders der Quickwert [187, 208] können ebenfalls als grobe Orientierungshilfe dienen, da normale Werte dieser Tests hohe Rivaroxabankonzentrationen in der Regel unwahrscheinlich machen [209].

6 Zusammenfassung

Rivaroxaban ist ein oral verfügbarer, direkter, selektiver und reversibler Inhibitor von Faktor Xa, unter dessen Einnahme keine routinemäßige Überwachung der Blutgerinnung im ambulanten Setting erforderlich ist. Dennoch gibt es klinische Situationen, in denen eine Kontrolle der Blutgerinnung bzw. des Rivaroxabenspiegels sehr hilfreich sein kann. Trotz der kurzen Halbwertszeit von Rivaroxaban ist es außerdem notwendig, die blutverdünnende Wirkung in Notfallsituationen schnell und ausreichend zu antagonisieren.

In dieser Studie testeten wir in vitro Quickwert (mit Recombiplastin und Neoplastin als Tissue factor), aktivierte partielle Thromboplastinzeit mit verschiedenen Reagenzien (aPTT-SP und aPTT-SS), Thrombin dynamics test mit extrinsischer bzw. intrinsischer Aktivierung (TDTin bzw. TDTex), Rotationsthrombelastometrie mit extrinsischer Aktivierung (EXTEM®) und Anti-Faktor Xa-Aktivität mit Rivaroxabankalibratoren und -kontrollen hinsichtlich ihrer Eignung zur Bestimmung der gerinnungshemmenden Wirkung von Rivaroxaban, bzw. des Rivaroxabenspiegels. Außerdem untersuchten wir PPSB (2188 IE bzw. 4375 IE), Feiba® (2100 IE), rFVIIa (90 µg/kg KG) und Faktor X (2027 IE) als mögliche Antagonisten für Rivaroxaban.

Alle von uns eingesetzten laborchemischen Messverfahren zeigten eine Dosis-Wirkungs-Beziehung zur Rivaroxaban-Plasmakonzentration, die jedoch in keinem Fall linear war. In dieser Studie zeigten der EXTEM®-Test und der Quickwert mit Neoplastin als Tissue factor die höchste Korrelation zur Rivaroxaban-Plasmakonzentration. Der Spearman-Korrelationskoeffizient lag hier bei $R=0,954$ bzw. $R=-0,94$ ($p<0,000001$). Auch der Quickwert mit Recombiplastin als Tissue factor korrelierte mit $R=-0,87$ gut mit der Rivaroxaban-Plasmakonzentration. Etwas schwächer fiel die Korrelation bei den anderen von uns eingesetzten Testverfahren Anti-Faktor Xa-Aktivität ($R=0,783$), aPTT-SP ($R=0,796$), aPTT-SS ($R=0,776$) und TDTex ($R=-0,777$) aus. Der TDTin zeigte mit $R=-0,525$ die schwächste Korrelation zur Rivaroxaban-Plasmakonzentration.

Unter den Antagonisten zeigten Feiba® und rFVIIa in allen Testverfahren eine deutliche Verbesserung oder komplette Normalisierung der Blutgerinnung, wobei es insbesondere nach Gabe von rFVIIa teilweise zu einer deutlichen Überkorrektur der Gerinnungsparameter kam. PPSB konnte lediglich in hoher Dosierung (4376 IE) nach Zugabe zu Plasma mit niedriger Rivaroxabandosierung (0,10 µg/ml) im Thrombin dynamics test (TDTex) eine Normalisierung der Blutgerinnung erreichen, während in allen anderen Testverfahren keine signifikante Verbesserung der Blutgerinnung durch PPSB erreicht werden konnte ($p > 0,05$). Mithilfe von Faktor X konnte in keinem unserer Experimente in Plasma mit Rivaroxaban eine signifikante Verbesserung der Blutgerinnung gemessen werden ($p < 0,05$).

Wir konnten die Ergebnisse anderer Studien bestätigen, dass Feiba® eine gute Alternative zur Antagonisierung von Rivaroxaban darstellt, sollte Andexanet alfa (AndexXa®) als spezifisches Antidot für Faktor Xa-Inhibitoren nicht zur Verfügung stehen. Jedoch ist auch Feiba® in vielen Kliniken nicht routinemäßig verfügbar. In diesen Fällen kann PPSB als mögliche Alternative dienen. Die Antagonisierung von Rivaroxaban durch rFVIIa kann aufgrund fehlender in vivo Daten und dem potenziell erhöhten Thromboembolierisiko nur nach Versagen aller Therapieoptionen bei unkontrollierbaren Blutungen empfohlen werden.

Die Anti-Faktor Xa-Aktivität mit Rivaroxabankalibratoren und -kontrollen wird von den meisten Autoren als genaueste Methode zur Messung der Rivaroxaban-Plasmakonzentration empfohlen. Dies konnten wir in unserer Studie, vermutlich aufgrund der begrenzten Probandenzahl ($n = 10$) nicht bestätigen. Zur Messung der Blutgerinnung nach Antagonisierung von Rivaroxaban eignet sich die Anti-Faktor Xa-Aktivität jedoch nicht, da sie die vorhandene Rivaroxabankonzentration im Plasma und nicht die Wirkung von Rivaroxaban auf die Blutgerinnung misst. Hier können EXTEM® als Point-of-Care-Methode und Quickwert, besonders mit dem Tissue factor Neoplastin eine gute Orientierungshilfe bieten.

7 Literaturverzeichnis

1. Rand, M.D., J.B. Lock, C. van't Veer, D.P. Gaffney, and K.G. Mann, *Blood clotting in minimally altered whole blood*. *Blood*, 1996. **88**(9): p. 3432-45.
2. Sucker, C., *Klinische Hämostaseologie in der Chirurgie*. 1. Auflage 2016, Berlin: Walter de Gruyter GmbH. S. 209.
3. Van Aken, H., K. Reinhart, T. Welte, and M. Weigand, *Intensivmedizin*. 3. Auflage 2014, Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG. S. 87.
4. Lindhoff-Last, E., M.M. Samama, T.L. Ortel, J.I. Weitz, and T.E. Spiro, *Assays for measuring rivaroxaban: their suitability and limitations*. *Ther Drug Monit*, 2010. **32**(6): p. 673-9.
5. Classen, M., V. Diehl, and K. Kochsiek, *Innere Medizin*. 6. Auflage 2009: Elsevier, Urban & Fischer. S. 69, 81 und 552-555.
6. Mann, K.G., R.J. Jenny, and S. Krishnaswamy, *Cofactor proteins in the assembly and expression of blood clotting enzyme complexes*. *Annu Rev Biochem*, 1988. **57**: p. 915-56.
7. Kasper, D.L., A.S. Fauci, S.L. Hauser, D.L. Longo, J.L. Jameson, and J. Loscalzo, *Harrisons Innere Medizin*. Vol. 1. 19. Auflage 2016: ABW Wissenschaftsverlag, Thieme. S. 489-491.
8. Samama, M.M., *The mechanism of action of rivaroxaban - an oral, direct Factor Xa inhibitor - compared with other anticoagulants*. *Thromb Res*, 2011. **127**(6): p. 497-504.
9. Brummel-Ziedins, K., T. Orfeo, N.S. Jenny, S.J. Everse, and K.G. Mann, *Blood coagulation and fibrinolysis*. 2003, Philadelphia: Lippencott Williams & Wilkins. p. 428-56.
10. Butenas, S., C. van 't Veer, and K.G. Mann, *Evaluation of the initiation phase of blood coagulation using ultrasensitive assays for serine proteases*. *J Biol Chem*, 1997. **272**(34): p. 21527-33.
11. Mann, K.G., *Thrombin formation*. *Chest*, 2003. **124**(3 Suppl): p. 4-10.
12. Hoffman, M. and Y. Dargaud, *Mechanisms and monitoring of bypassing agent therapy*. *J Thromb Haemost*, 2012. **10**(8): p. 1478-85.
13. Siegenthaler, W., H.E. Blum, and D. Müller-Wieland, *Klinische Pathophysiologie*. 10. Auflage, 2018, Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG. S. 1284.
14. Striebel, H.W., *Die Anästhesie*. Vol. 1. 2014, Stuttgart: Schattauer. S. 645.
15. Hepner, M. and V. Karlaftis, *Antithrombin*. 2013/04/03 ed. *Methods Mol Biol*. Vol. 992. 2013: Humana Press, Totowa, NJ. 355-364.
16. Lüllmann, H., K. Mohr, M. Wehling, and L. Hein, *Pharmakologie und Toxikologie*. 18. Auflage 2016, Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG. S. 225-239.

17. Perzborn, E., S. Roehrig, A. Straub, D. Kubitzka, and F. Misselwitz, *The discovery and development of rivaroxaban, an oral, direct factor Xa inhibitor*. *Nat Rev Drug Discov*, 2011. **10**(1): p. 61-75.
18. Garcia, D.A., T.P. Baglin, J.I. Weitz, and M.M. Samama, *Parenteral anticoagulants: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines*. Chest, 2012. **141**(2 Suppl): p. e24S-e43S.
19. Aktories, K., U. Förstermann, F. Hofmann, and K. Starke, *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. 12. Auflage 2017, München: Elsevier GmbH. S. 473-483.
20. Karow, T. and R. Lang-Roth, *Pharmakologie und Toxikologie*. 2015, Pulheim: Thomas Karow. S. 159 f.
21. Alban, S., D. Welzel, and H.C. Hemker, *Pharmacokinetic and pharmacodynamic characterization of a medium-molecular-weight heparin in comparison with UFH and LMWH*. *Semin Thromb Hemost*, 2002. **28**(4): p. 369-78.
22. Linkins, L.A. and T.E. Warkentin, *Rivaroxaban for treatment of HIT: a riveting first experience*. *Thromb Res*, 2015. **135**(1): p. 1-2.
23. Watras, M.M., J.P. Patel, and R. Arya, *Traditional Anticoagulants and Hair Loss: A Role for Direct Oral Anticoagulants? A Review of the Literature*. *Drugs Real World Outcomes*, 2016. **3**(1): p. 1-6.
24. Lison, S. and M. Spannagl, *Monitoring of direct anticoagulants*. *Wien Med Wochenschr*, 2011. **161**(3-4): p. 58-62.
25. AOK, W.I.d. *PharMaAnalyst*. 2017 [cited 2019 26.01.2019]; Available from: <https://arzneimittel.wido.de/PharMaAnalyst/?jsessionid=5D5552F3D80A784A0BD7AF00771C01FA?0>.
26. Asmis, L.M., L. Alberio, A. Angelillo-Scherrer, W. Korte, A. Mendez, G. Reber, B. Seifert, H. Stricker, D.A. Tsakiris, and W.A. Wuillemin, *Rivaroxaban: Quantification by anti-FXa assay and influence on coagulation tests: a study in 9 Swiss laboratories*. *Thromb Res*, 2012. **129**(4): p. 492-8.
27. Levy, J.H., K.A. Tanaka, and W. Dietrich, *Perioperative hemostatic management of patients treated with vitamin K antagonists*. *Anesthesiology*, 2008. **109**(5): p. 918-26.
28. Ansell, J., J. Hirsh, L. Poller, H. Bussey, A. Jacobson, and E. Hylek, *The pharmacology and management of the vitamin K antagonists: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy*. Chest, 2004. **126**(3 Suppl): p. 204-33.
29. Malhotra, O.P., M.E. Nesheim, and K.G. Mann, *The kinetics of activation of normal and gamma-carboxyglutamic acid-deficient prothrombins*. *J Biol Chem*, 1985. **260**(1): p. 279-87.
30. Steffel, J. and T.F. Luscher, *Vitamin K antagonists. Ready to be replaced?* *Hamostaseologie*, 2012. **32**(4): p. 249-57.

-
31. Choonara, I.A., R.G. Malia, B.P. Haynes, C.R. Hay, S. Cholerton, A.M. Breckenridge, F.E. Preston, and B.K. Park, *The relationship between inhibition of vitamin K1 2,3-epoxide reductase and reduction of clotting factor activity with warfarin*. Br J Clin Pharmacol, 1988. **25**(1): p. 1-7.
 32. Hanley, J.P., *Warfarin reversal*. J Clin Pathol, 2004. **57**(11): p. 1132-9.
 33. Tincani, E., P. Baldini, M.A. Crowther, A. Zanasi, P. Ferrari, A.M. Cenci, and G. Rioli, *Bleeding rates in patients older than 90 years of age on vitamin K antagonist therapy for nonvalvular atrial fibrillation*. Blood Coagul Fibrinolysis, 2009. **20**(1): p. 47-51.
 34. Cadiou, G., R. Varin, H. Levesque, V. Grassi, J. Benichou, I. Tiret, B. Dieu, V. Lecam-Duchez, J.Y. Borg, J.M. Muller, Y. Benhamou, and I. Marie, *Risk factors of vitamin K antagonist overcoagulation. A case-control study in unselected patients referred to an emergency department*. Thromb Haemost, 2008. **100**(4): p. 685-92.
 35. Khorsand, N., N.J. Veeger, M. Muller, J.W. Overdiek, W. Huisman, R.M. van Hest, and K. Meijer, *Fixed versus variable dose of prothrombin complex concentrate for counteracting vitamin K antagonist therapy*. Transfus Med, 2011. **21**(2): p. 116-23.
 36. Haas, S., M. Spannagl, and S.M. Schellong, *Novel oral anticoagulants--key messages for the angiologist*. Vasa, 2012. **41**(3): p. 177-91.
 37. Ma, G., R. Zhang, X. Wu, D. Wang, and K. Ying, *Direct factor Xa inhibitors (rivaroxaban and apixaban) versus enoxaparin for the prevention of venous thromboembolism after total knee replacement: A meta-analysis of 6 randomized clinical trials*. Thromb Res, 2015. **135**(5): p. 816-22.
 38. Caldeira, D., M. Barra, A.T. Santos, D. de Abreu, F.J. Pinto, J.J. Ferreira, and J. Costa, *Risk of drug-induced liver injury with the new oral anticoagulants: systematic review and meta-analysis*. Heart, 2014. **100**(7): p. 550-6.
 39. Steffel, J. and T.F. Luscher, *Novel anticoagulants in clinical development: focus on factor Xa and direct thrombin inhibitors*. J Cardiovasc Med (Hagerstown), 2009. **10**(8): p. 616-23.
 40. Levy, J.H., D. Faraoni, J.L. Spring, J.D. Douketis, and C.M. Samama, *Managing new oral anticoagulants in the perioperative and intensive care unit setting*. Anesthesiology, 2013. **118**(6): p. 1466-74.
 41. Heindl, B. and M. Spannagl, *New oral anticoagulants. Consequences for perioperative coagulation diagnostics and therapy*. Anaesthesist, 2009. **58**(12): p. 1252-5.
 42. Siegal, D.M., D.A. Garcia, and M.A. Crowther, *How I treat: target specific oral anticoagulant associated bleeding*. Blood, 2014. **123**(8): p. 1125-8.
 43. Douxfils, J., F. Mullier, C. Loosen, C. Chatelain, B. Chatelain, and J.M. Dogne, *Assessment of the impact of rivaroxaban on coagulation assays: laboratory recommendations for the monitoring of rivaroxaban and review of the literature*. Thromb Res, 2012. **130**(6): p. 956-66.
 44. Perzborn, E., J. Strassburger, A. Wilmen, J. Pohlmann, S. Roehrig, K.H. Schlemmer, and A. Straub, *In vitro and in vivo studies of the novel*

- antithrombotic agent BAY 59-7939--an oral, direct Factor Xa inhibitor.* J Thromb Haemost, 2005. **3**(3): p. 514-21.
45. Mann, K.G., K. Brummel, and S. Butenas, *What is all that thrombin for?* J Thromb Haemost, 2003. **1**(7): p. 1504-14.
46. Leadley, R.J., Jr., *Coagulation factor Xa inhibition: biological background and rationale.* Curr Top Med Chem, 2001. **1**(2): p. 151-9.
47. Brummel-Ziedins, K.E., T. Orfeo, M. Gissel, K.G. Mann, and F.R. Rosendaal, *Factor Xa generation by computational modeling: an additional discriminator to thrombin generation evaluation.* PLoS One, 2012. **7**(1): p. e29178.
48. Kubitzka, D., E. Perzborn, and S.D. Berkowitz, *The discovery of rivaroxaban: translating preclinical assessments into clinical practice.* Front Pharmacol, 2013. **4**: p. 145.
49. Ieko, M., T. Tarumi, M. Takeda, S. Naito, T. Nakabayashi, and T. Koike, *Synthetic selective inhibitors of coagulation factor Xa strongly inhibit thrombin generation without affecting initial thrombin forming time necessary for platelet activation in hemostasis.* J Thromb Haemost, 2004. **2**(4): p. 612-8.
50. Biemond, B.J., E. Perzborn, P.W. Friederich, M. Levi, U. Buetehorn, and H.R. Buller, *Prevention and treatment of experimental thrombosis in rabbits with rivaroxaban (BAY 597939) - an oral, direct factor Xa inhibitor.* Thromb Haemost, 2007. **97**(3): p. 471-7.
51. Mueck, W., J. Stampfuss, D. Kubitzka, and M. Becka, *Clinical pharmacokinetic and pharmacodynamic profile of rivaroxaban.* Clin Pharmacokinet, 2014. **53**(1): p. 1-16.
52. Bayer AG, *Fachinformation Xarelto® 10mg Filmtabletten.* 2015.
53. Levy, J.H., A.C. Spyropoulos, C.M. Samama, and J. Douketis, *Direct oral anticoagulants: new drugs and new concepts.* JACC Cardiovasc Interv, 2014. **7**(12): p. 1333-51.
54. EMA Xarelto 373625/2013. *EPAR - Summary for the public.* 2013 [cited 2014 13.02.]; Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/000944/WC500057109.pdf.
55. Levy, S., *Newer clinically available antithrombotics and their antidotes.* J Interv Card Electrophysiol, 2014. **40**(3): p. 269-75.
56. Ebright, J. and S.A. Mousa, *Oral anticoagulants and status of antidotes for the reversal of bleeding risk.* Clin Appl Thromb Hemost, 2015. **21**(2): p. 105-14.
57. EMA Xarelto 596437/2018, *EPAR Medicine overview.* 2018, European Medicines Agency.
58. FDA U.S. Food&Drug Administration. *FDA approves Xarelto to prevent stroke in people with common type of abnormal heart rhythm.* 2011 [cited 2018 01.11.]; Available from: <https://wayback.archive-it.org/7993/20170114035559/http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm278646.htm>.
59. Bayer AG, *Fachinformation Xarelto® 10mg Filmtabletten.* 2013.

-
60. Schnabel, R.B., S.S. Johannsen, P.S. Wild, and S. Blankenberg, *Prevalence and risk factors of atrial fibrillation in Germany : data from the Gutenberg Health Study*. Herz, 2015. **40**(1): p. 8-15.
 61. *Psyhyrembel Klinisches Wörterbuch*,. 267. Auflage, 2017, Berlin: Walter de Gruyter GmbH. S. 1796.
 62. Kubitza, D. and S. Haas, *Novel factor Xa inhibitors for prevention and treatment of thromboembolic diseases*. Expert Opin Investig Drugs, 2006. **15**(8): p. 843-55.
 63. Sterne, J.A., P.N. Boudalia, P.A. Bryden, P.A. Davies, J.A. Lopez-Lopez, G.N. Okoli, H.H. Thom, D.M. Caldwell, S. Dias, D. Eaton, J.P. Higgins, W. Hollingworth, C. Salisbury, J. Savovic, R. Sofat, A. Stephens-Boal, N.J. Welton, and A.D. Hingorani, *Oral anticoagulants for primary prevention, treatment and secondary prevention of venous thromboembolic disease, and for prevention of stroke in atrial fibrillation: systematic review, network meta-analysis and cost-effectiveness analysis*. Health Technol Assess, 2017. **21**(9): p. 1-386.
 64. AWMF Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V., *S3-Leitlinie Prophylaxe der venösen Thromboembolie (VTE)*. 2015, AWMF (Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V.). p. 238.
 65. Moerchel, C. and K. Kroeger, *Prophylaxe tiefer Bein- und Beckenvenenthrombose*. Dtsch Arztebl International, 2007. **104**(42): p. 2886-93.
 66. Sato, D., S. Ikeda, S. Koga, Y. Yamagata, M. Eguchi, T. Yonekura, A. Tsuneto, T. Yoshimuta, Y. Koide, H. Kawano, and K. Maemura, *Effectiveness and safety of oral direct factor Xa inhibitors for the treatment of venous thromboembolism in patients with cancer and/or older age*. Heart Vessels, 2018. **54**(4): p. 678-87.
 67. Speed, V., L.N. Roberts, J.P. Patel, and R. Arya, *Venous thromboembolism and women's health*. Br J Haematol, 2018. **183**(3): p. 346-63.
 68. Geerts, W.H., G.F. Pineo, J.A. Heit, D. Bergqvist, M.R. Lassen, C.W. Colwell, and J.G. Ray, *Prevention of venous thromboembolism: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy*. Chest, 2004. **126**(3 Suppl): p. 338s-400s.
 69. NICE, N.I.f.H.a.C.E., *Risk assessment for venous thromboembolism (VTE)*. 2010: p. 2.
 70. Lassen, M.R., W. Ageno, L.C. Borris, J.R. Lieberman, N. Rosencher, T.J. Bandel, F. Misselwitz, and A.G. Turpie, *Rivaroxaban versus enoxaparin for thromboprophylaxis after total knee arthroplasty*. N Engl J Med, 2008. **358**(26): p. 2776-86.
 71. Kakkar, A.K., B. Brenner, O.E. Dahl, B.I. Eriksson, P. Mouret, J. Muntz, A.G. Soglian, A.F. Pap, F. Misselwitz, and S. Haas, *Extended duration rivaroxaban versus short-term enoxaparin for the prevention of venous thromboembolism after total hip arthroplasty: a double-blind, randomised controlled trial*. Lancet, 2008. **372**(9632): p. 31-9.
 72. Turpie, A.G., M.R. Lassen, B.L. Davidson, K.A. Bauer, M. Gent, L.M. Kwong, F.D. Cushner, P.A. Lotke, S.D. Berkowitz, T.J. Bandel, A. Benson, F.

- Misselwitz, and W.D. Fisher, *Rivaroxaban versus enoxaparin for thromboprophylaxis after total knee arthroplasty (RECORD4): a randomised trial*. Lancet, 2009. **373**(9676): p. 1673-80.
73. Bauersachs, R., S.D. Berkowitz, B. Brenner, H.R. Buller, H. Decousus, A.S. Gallus, A.W. Lensing, F. Misselwitz, M.H. Prins, G.E. Raskob, A. Segers, P. Verhamme, P. Wells, G. Agnelli, H. Bounameaux, A. Cohen, B.L. Davidson, F. Piovella, and S. Schellong, *Oral rivaroxaban for symptomatic venous thromboembolism*. N Engl J Med, 2010. **363**(26): p. 2499-510.
74. Buller, H.R., M.H. Prins, A.W. Lensin, H. Decousus, B.F. Jacobson, E. Minar, J. Chlumsky, P. Verhamme, P. Wells, G. Agnelli, A. Cohen, S.D. Berkowitz, H. Bounameaux, B.L. Davidson, F. Misselwitz, A.S. Gallus, G.E. Raskob, S. Schellong, and A. Segers, *Oral rivaroxaban for the treatment of symptomatic pulmonary embolism*. N Engl J Med, 2012. **366**(14): p. 1287-97.
75. Prins, M.H., A.W. Lensing, R. Bauersachs, B. van Bellen, H. Bounameaux, T.A. Brighton, A.T. Cohen, B.L. Davidson, H. Decousus, G.E. Raskob, S.D. Berkowitz, and P.S. Wells, *Oral rivaroxaban versus standard therapy for the treatment of symptomatic venous thromboembolism: a pooled analysis of the EINSTEIN-DVT and PE randomized studies*. Thromb J, 2013. **11**(1): p. 11-21.
76. Bauersachs, R. and N. Koitabashi, *Overview of Current Evidence on the Impact of the Initial High Dose of the Direct Factor Xa Inhibitor Rivaroxaban on Thrombus Resolution in the Treatment of Venous Thromboembolism*. Int Heart J, 2017. **58**(1): p. 6-15.
77. Potpara, T.S. and G.Y. Lip, *Current therapeutic strategies and future perspectives for the prevention of arterial thromboembolism: focus on atrial fibrillation*. Curr Pharm Des, 2010. **16**(31): p. 3455-71.
78. NICE, N.C.C.f.C.C., *Atrial Fibrillation: National Clinical Guideline for Management in Primary and Secondary Care*. 2014, Royal College of Physicians: London.
79. Kannel, W.B., P.A. Wolf, E.J. Benjamin, and D. Levy, *Prevalence, incidence, prognosis, and predisposing conditions for atrial fibrillation: population-based estimates*. Am J Cardiol, 1998. **82**(8a): p. 2n-9n.
80. Bai, Y., H. Deng, A. Shantsila, and G.Y. Lip, *Rivaroxaban Versus Dabigatran or Warfarin in Real-World Studies of Stroke Prevention in Atrial Fibrillation: Systematic Review and Meta-Analysis*. Stroke, 2017. **48**(4): p. 970-76.
81. Ruff, C.T., R.P. Giugliano, E. Braunwald, E.B. Hoffman, N. Deenadayalu, M.D. Ezekowitz, A.J. Camm, J.I. Weitz, B.S. Lewis, A. Parkhomenko, T. Yamashita, and E.M. Antman, *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**(9921): p. 955-62.
82. Ahrens, I. and C. Bode, *Direct oral anticoagulants in acute coronary syndrome*. Semin Hematol, 2014. **51**(2): p. 147-51.
83. Battegay, P.D.m.E.H., *Differenzialdiagnose Innerer Krankheiten*. 21. Auflage 2017, Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG. S. 996.

-
84. Mega, J.L., E. Braunwald, S.A. Murphy, A.N. Plotnikov, P. Burton, R.G. Kiss, A. Parkhomenko, M. Tendera, P. Widimsky, and C.M. Gibson, *Rivaroxaban in patients stabilized after a ST-segment elevation myocardial infarction: results from the ATLAS ACS-2-TIMI-51 trial (Anti-Xa Therapy to Lower Cardiovascular Events in Addition to Standard Therapy in Subjects with Acute Coronary Syndrome-Thrombolysis In Myocardial Infarction-51)*. J Am Coll Cardiol, 2013. **61**(18): p. 1853-9.
 85. Gibson, C.M., A.K. Chakrabarti, J. Mega, C. Bode, J.P. Bassand, F.W. Verheugt, D.L. Bhatt, S. Goto, M. Cohen, S. Mohanavelu, P. Burton, G. Stone, and E. Braunwald, *Reduction of stent thrombosis in patients with acute coronary syndromes treated with rivaroxaban in ATLAS-ACS 2 TIMI 51*. J Am Coll Cardiol, 2013. **62**(4): p. 286-90.
 86. Bayer AG, *Fachinformation Xarelto® 2,5mg Filmtabletten*. 2018.
 87. Ford, E.S., K.J. Greenlund, and Y. Hong, *Ideal cardiovascular health and mortality from all causes and diseases of the circulatory system among adults in the United States*. Circulation, 2012. **125**(8): p. 987-95.
 88. Kasper, D.L., A.S. Fauci, S.L. Hauser, D.L. Longo, J.L. Jameson, and J. Loscalzo, *Harrisons Innere Medizin*. Vol. 2. 19. Auflage 2016: ABW Wissenschaftsverlag, Thieme. p. 1921 und 2005 f.
 89. Ramacciotti, E., V. Castelli, Jr., J. Walenga, and J. Fareed, *Medical management of stable peripheral artery disease: the COMPASS trial. Perspectives from a vascular standpoint*. Int Angiol, 2018. **37**(4): p. 255-60.
 90. Eikelboom, J.W., S.J. Connolly, J. Bosch, G.R. Dagenais, R.G. Hart, O. Shestakovska, R. Diaz, M. Alings, E.M. Lonn, S.S. Anand, P. Widimsky, M. Hori, A. Avezum, L.S. Piegas, K.R.H. Branch, J. Probstfield, D.L. Bhatt, J. Zhu, Y. Liang, A.P. Maggioni, P. Lopez-Jaramillo, M. O'Donnell, A.K. Kakkar, K.A.A. Fox, A.N. Parkhomenko, G. Ertl, S. Stork, M. Keltai, L. Ryden, N. Pogossova, A.L. Dans, F. Lanus, P.J. Commerford, C. Torp-Pedersen, T.J. Guzik, P.B. Verhamme, D. Vinereanu, J.H. Kim, A.M. Tonkin, B.S. Lewis, C. Felix, K. Yusoff, P.G. Steg, K.P. Metsarinne, N. Cook Bruns, F. Misselwitz, E. Chen, D. Leong, and S. Yusuf, *Rivaroxaban with or without Aspirin in Stable Cardiovascular Disease*. N Engl J Med, 2017. **377**(14): p. 1319-30.
 91. Espinola-Klein, C., *Antithrombotische Therapie bei peripherer arterieller Verschlusskrankheit*. Dtsch med Wochenschr, 2018. **143**(15): p. 1060-4.
 92. Kitagawa, F., J. Ishii, S. Hiramitsu, H. Takahashi, R. Okuyama, H. Kawai, T. Muramatsu, M. Harada, S. Motoyama, H. Naruse, S. Matsui, M. Sarai, M. Hayashi, E. Watanabe, H. Izawa, and Y. Ozaki, *Assessment of trough rivaroxaban concentrations on markers of coagulation activation in nonvalvular atrial fibrillation population*. Heart Vessels, 2016. **32**(5): p. 609-17.
 93. Korber, M.K., E. Langer, S. Ziemer, E. Perzborn, C. Gericke, and C. Heymann, *Measurement and reversal of prophylactic and therapeutic peak levels of rivaroxaban: an in vitro study*. Clin Appl Thromb Hemost, 2014. **20**(7): p. 735-40.

-
94. Augoustides, J.G., *Breakthroughs in anticoagulation: advent of the oral direct factor Xa inhibitors*. J Cardiothorac Vasc Anesth, 2012. **26**(4): p. 740-5.
 95. Herrmann, R., J. Thom, A. Wood, M. Phillips, S. Muhammad, and R. Baker, *Thrombin generation using the calibrated automated thrombinoscope to assess reversibility of dabigatran and rivaroxaban*. Thromb Haemost, 2013. **111**(5): p. 989-95.
 96. Samama, M.M., G. Contant, T.E. Spiro, E. Perzborn, L. Le Flem, C. Guinet, Y. Gourmelin, G. Rohde, and J.L. Martinoli, *Laboratory assessment of rivaroxaban: a review*. Thromb J, 2013. **11**(1): p. 11-18.
 97. Fontana, P., L. Alberio, A. Angelillo-Scherrer, L.M. Asmis, W. Korte, A. Mendez, P. Schmid, H. Stricker, J.D. Studt, D.A. Tsakiris, W.A. Wuillemin, and M. Nagler, *Impact of rivaroxaban on point-of-care assays*. Thromb Res, 2017. **153**: p. 65-70.
 98. Simeon, L., M. Nagler, and W.A. Wuillemin, *[New oral anticoagulants - influence on coagulation tests]*. Dtsch Med Wochenschr, 2014. **139**(3): p. 94-9.
 99. Francart, S.J., E.M. Hawes, A.M. Deal, D.M. Adcock, R. Gosselin, C. Jeanneret, K.D. Friedman, and S. Moll, *Performance of coagulation tests in patients on therapeutic doses of rivaroxaban. A cross-sectional pharmacodynamic study based on peak and trough plasma levels*. Thromb Haemost, 2014. **111**(6): p. 1133-40.
 100. Cuker, A., D.M. Siegal, M.A. Crowther, and D.A. Garcia, *Laboratory measurement of the anticoagulant activity of the non-vitamin K oral anticoagulants*. J Am Coll Cardiol, 2014. **64**(11): p. 1128-39.
 101. Douxfils, J., B. Chatelain, P. Hjemdahl, B. Devalet, A.L. Sennesael, P. Wallemacq, Y. Ronquist-Nii, A. Pohanka, J.M. Dogne, and F. Mullier, *Does the Russell Viper Venom time test provide a rapid estimation of the intensity of oral anticoagulation? A cohort study*. Thromb Res, 2015. **135**(5): p. 852-60.
 102. Favaloro, E.J. and G. Lippi, *The new oral anticoagulants and the future of haemostasis laboratory testing*. Biochem Med (Zagreb), 2012. **22**(3): p. 329-41.
 103. Samama, M.M., J.L. Martinoli, L. LeFlem, C. Guinet, G. Plu-Bureau, F. Depasse, and E. Perzborn, *Assessment of laboratory assays to measure rivaroxaban - an oral, direct factor Xa inhibitor*. Thromb Haemost, 2010. **103**(4): p. 815-25.
 104. Van Blerk, M., E. Bailleul, B. Chatelain, A. Demulder, K. Devreese, J. Douxfils, K. Jochmans, F. Mullier, W. Wijns, M.R. Soumali, W. Coucke, K. Vernelen, and P. Van de Walle, *Influence of dabigatran and rivaroxaban on routine coagulation assays. A nationwide Belgian survey*. Thromb Haemost, 2015. **113**(1): p. 154-64.
 105. Barrett, Y.C., Z. Wang, C. Frost, and A. Shenker, *Clinical laboratory measurement of direct factor Xa inhibitors: anti-Xa assay is preferable to prothrombin time assay*. Thromb Haemost, 2010. **104**(6): p. 1263-71.
 106. Mani, H., C. Hesse, G. Stratmann, and E. Lindhoff-Last, *Rivaroxaban differentially influences ex vivo global coagulation assays based on the administration time*. Thromb Haemost, 2011. **106**(1): p. 156-64.

-
107. Lison, S., W. Dietrich, S. Braun, J. Boehm, T. Schuster, A. Enghard, A. Perchuc, M. Spannagl, and R. Busley, *Enhanced thrombin generation after cardiopulmonary bypass surgery*. *Anesth Analg*, 2011. **112**(1): p. 37-45.
 108. Hemker, H.C. and S. Beguin, *Thrombin generation in plasma: its assessment via the endogenous thrombin potential*. *Thromb Haemost*, 1995. **74**(1): p. 134-8.
 109. Hemker, H.C., R. Al Dieri, E. De Smedt, and S. Beguin, *Thrombin generation, a function test of the haemostatic-thrombotic system*. *Thromb Haemost*, 2006. **96**(5): p. 553-61.
 110. Calatzis, A., M. Spannagl, and W. Schramm, *Effect of Variations of Single Factor Activity on Thrombin Germeration as Determined by the Thrombin Dynamics Test [abstract]*. *Thromb Haemost*, 2007(Suppl. 5): p. P-S-124.
 111. Sumann, G., D. Fries, A. Griesmacher, G. Falkensammer, A. Klingler, A. Koller, W. Streif, S. Greie, B. Schobersberger, and W. Schobersberger, *Blood coagulation activation and fibrinolysis during a downhill marathon run*. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2007. **18**(5): p. 435-40.
 112. Enghard, A., *Thrombinbildungsdynamik bei herzchirurgischen Eingriffen mit besonderer Betonung der postoperativen Phase*. 2010, (unveröffentlichte Dissertation) Technische Universität München.
 113. Zürn, S., *ex-TDT: ein Thrombingenerierungstest für den extrinsischen Weg der Blutgerinnung*. 2018, (unveröffentlichte Dissertation) Ludwig-Maximilians-Universität München.
 114. Calatzis, A., A. Reininger, A. Spannagl, and W. Schramm, *Rapid and automated quantification of the kinetics of thrombin formation using the Thrombin Dynamics Test (TDT)*. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2003. **1**: p. P1589-P1589.
 115. Pentapharm, *Pefakit® inTDT® - Package Insert*. 2011.
 116. Hosokawa, K., T. Ohnishi, H. Sameshima, N. Miura, T. Koide, I. Maruyama, and K.A. Tanaka, *Comparative Evaluation of Direct Thrombin and Factor Xa Inhibitors with Antiplatelet Agents under Flow and Static Conditions: An In Vitro Flow Chamber Model*. *PLoS One*, 2014. **9**(1): p. e86491.
 117. Gerotziafas, G.T., I. Elalamy, F. Depasse, E. Perzborn, and M.M. Samama, *In vitro inhibition of thrombin generation, after tissue factor pathway activation, by the oral, direct factor Xa inhibitor rivaroxaban*. *J Thromb Haemost*, 2007. **5**(4): p. 886-8.
 118. TEM® Innovations München, Deutschland,, *Instructions for use of in-TEM®*. 2011.
 119. TEM® Innovations München, Deutschland,, *Instructions for use of exTEM®*. 2011.
 120. Mittermayr, M., W. Streif, T. Haas, D. Fries, C. Velik-Salchner, A. Klingler, E. Oswald, C. Bach, M. Schnapka-Koepf, and P. Innerhofer, *Hemostatic changes after crystalloid or colloid fluid administration during major orthopedic surgery: the role of fibrinogen administration*. *Anesth Analg*, 2007. **105**(4): p. 905-17.

121. Luddington, R.J., *Thrombelastography/thromboelastometry*. Clin Lab Haematol, 2005. **27**(2): p. 81-90.
122. Lang, T. and M. von Depka, [*Possibilities and limitations of thrombelastometry/-graphy*]. Hamostaseologie, 2006. **26**(3 Suppl 1): p. S20-9.
123. Casutt, M., C. Konrad, and G. Schuepfer, *Effect of rivaroxaban on blood coagulation using the viscoelastic coagulation test ROTEM*. Anaesthesist, 2012. **61**(11): p. 948-53.
124. Escolar, G., E. Arellano-Rodrigo, I. Lopez-Vilchez, P. Molina, J. Sanchis, J.C. Reverter, X. Carne, J. Cid, J. Villalta, D. Tassies, A.M. Galan, and M. Diaz-Ricart, *Reversal of rivaroxaban-induced alterations on hemostasis by different coagulation factor concentrates*. Circ J, 2015. **79**(2): p. 331-8.
125. Schenk, B., P. Wurtinger, W. Streif, W. Sturm, D. Fries, and M. Bachler, *Ex vivo reversal of effects of rivaroxaban evaluated using thromboelastometry and thrombin generation assay*. Br J Anaesth, 2016. **117**(5): p. 583-91.
126. Kubitzka, D., M. Becka, G. Wensing, B. Voith, and M. Zuehlsdorf, *Safety, pharmacodynamics, and pharmacokinetics of BAY 59-7939--an oral, direct Factor Xa inhibitor--after multiple dosing in healthy male subjects*. Eur J Clin Pharmacol, 2005. **61**(12): p. 873-80.
127. Harenberg, J., S. Marx, C. Weiss, R. Kramer, M. Samama, and S. Schulman, *Report of the Subcommittee of Control of Anticoagulation on the determination of the anticoagulant effects of rivaroxaban*. J Thromb Haemost, 2012. **10**(7): p. 1433-6.
128. Samama, M.M., J. Amiral, C. Guinet, E. Perzborn, and F. Depasse, *An optimised, rapid chromogenic assay, specific for measuring direct factor Xa inhibitors (rivaroxaban) in plasma*. Thromb Haemost, 2010. **104**(5): p. 1078-9.
129. Harenberg, J., R. Kramer, C. Giese, S. Marx, C. Weiss, and M. Wehling, *Determination of rivaroxaban by different factor Xa specific chromogenic substrate assays: reduction of interassay variability*. J Thromb Thrombolysis, 2011. **32**(3): p. 267-71.
130. Samama, M.M., G. Contant, T.E. Spiro, E. Perzborn, C. Guinet, Y. Gourmelin, L. Le Flem, G. Rohde, and J.L. Martinoli, *Evaluation of the anti-factor Xa chromogenic assay for the measurement of rivaroxaban plasma concentrations using calibrators and controls*. Thromb Haemost, 2012. **107**(2): p. 379-87.
131. Stago, D., *Fachinformation STA®-Liquid Anti-Xa und STA® Rivaroxaban Kalibrator und Kontrolle*. 2011.
132. Reed, M. and D. Nicolas. *Andexanet Alfa*. StatPearls 2021 2021/01/31 [cited 2021 2021/01/31]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519499/>.
133. Enriquez, A., G.Y. Lip, and A. Baranchuk, *Anticoagulation reversal in the era of the non-vitamin K oral anticoagulants*. Europace, 2015. **18**(7): p. 955-64.
134. Masotti, L., G. Lorenzini, C. Seravalle, G. Panigada, G. Landini, R. Cappelli, and S. Schulman, *Management of new oral anticoagulants related life threatening or major bleedings in real life: a brief report*. J Thromb Thrombolysis, 2015. **39**(4): p. 427-33.

-
135. Connolly, S.J., T.J. Milling, Jr., J.W. Eikelboom, C.M. Gibson, J.T. Curnutte, A. Gold, M.D. Bronson, G. Lu, P.B. Conley, P. Verhamme, J. Schmidt, S. Middeldorp, A.T. Cohen, J. Beyer-Westendorf, P. Albaladejo, J. Lopez-Sendon, S. Goodman, J. Leeds, B.L. Wiens, D.M. Siegal, E. Zotova, B. Meeks, J. Nakamya, W.T. Lim, and M. Crowther, *Andexanet Alfa for Acute Major Bleeding Associated with Factor Xa Inhibitors*. *N Engl J Med*, 2016. **375**(12): p. 1131-41.
 136. Perzborn, E., S. Heitmeier, V. Laux, and A. Buchmuller, *Reversal of rivaroxaban-induced anticoagulation with prothrombin complex concentrate, activated prothrombin complex concentrate and recombinant activated factor VII in vitro*. *Thromb Res*, 2014. **133**(4): p. 671-81.
 137. Portola Pharmaceuticals, I., *Andexxa Package Insert*. 2018.
 138. European Medicines Agency, *Ondexxya: EPAR - Medicine overview*. 2019.
 139. Giffard-Quillon, L., H. Desmurs-Clavel, C. Grange, Y. Jourdy, and Y. Dargaud, *Reversal of rivaroxaban anticoagulant effect by prothrombin complex concentrates: which dose is sufficient to restore normal thrombin generation?* *Thromb J*, 2020. **18**: p. 15.
 140. Schulman, S., P.L. Gross, B. Ritchie, S. Nahirniak, Y. Lin, L. Lieberman, M. Carrier, M.A. Crowther, I. Ghosh, A. Lazo-Langner, and M. Zondag, *Prothrombin Complex Concentrate for Major Bleeding on Factor Xa Inhibitors: A Prospective Cohort Study*. *Thromb Haemost*, 2018. **118**(5): p. 842-51.
 141. Eerenberg, E.S., P.W. Kamphuisen, M.K. Sijpkens, J.C. Meijers, H.R. Buller, and M. Levi, *Reversal of rivaroxaban and dabigatran by prothrombin complex concentrate: a randomized, placebo-controlled, crossover study in healthy subjects*. *Circulation*, 2011. **124**(14): p. 1573-9.
 142. Bershada, E.M. and J.I. Suarez, *Prothrombin complex concentrates for oral anticoagulant therapy-related intracranial hemorrhage: a review of the literature*. *Neurocrit Care*, 2010. **12**(3): p. 403-13.
 143. Kaatz, S., P.A. Kouides, D.A. Garcia, A.C. Spyropoulos, M. Crowther, J.D. Douketis, A.K. Chan, A. James, S. Moll, T.L. Ortel, E.M. Van Cott, and J. Ansell, *Guidance on the emergent reversal of oral thrombin and factor Xa inhibitors*. *Am J Hematol*, 2012. **87**(Suppl. 1): p. S141-5.
 144. Allison, T.A., P.J. Lin, J.A. Gass, K. Chong, S.J. Prater, M.A. Escobar, and H.D. Hartman, *Evaluation of the Use of Low-Dose 4-Factor Prothrombin Complex Concentrate in the Reversal of Direct Oral Anticoagulants in Bleeding Patients*. *J Intensive Care Med*, 2018. **35**(9): p. 903-8.
 145. CSL Behring, *Fachinformation Beriplex®*. 2014.
 146. Siegal, D.M. and A. Cuker, *Reversal of target-specific oral anticoagulants*. *Drug Discov Today*, 2014. **19**(9): p. 1465-70.
 147. Holbrook, A., S. Schulman, D.M. Witt, P.O. Vandvik, J. Fish, M.J. Kovacs, P.J. Svensson, D.L. Veenstra, M. Crowther, and G.H. Guyatt, *Evidence-based management of anticoagulant therapy: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines*. *Chest*, 2012. **141**(2 Suppl): p. e152S-e184S.

-
148. Levi, M., K.T. Moore, C.F. Castillejos, D. Kubitza, S.D. Berkowitz, S.Z. Goldhaber, M. Raghoebar, M.R. Patel, J.I. Weitz, and J.H. Levy, *Comparison of three-factor and four-factor prothrombin complex concentrates regarding reversal of the anticoagulant effects of rivaroxaban in healthy volunteers*. *J Thromb Haemost*, 2014. **12**(9): p. 1428-36.
 149. Majeed, A., A. Agren, M. Holmstrom, M. Bruzelius, R. Chaireti, J. Odeberg, E.L. Hempel, M. Magnusson, T. Frisk, and S. Schulman, *Management of rivaroxaban- or apixaban-associated major bleeding with prothrombin complex concentrates: a cohort study*. *Blood*, 2017. **130**(15): p. 1706-12.
 150. Dentali, F., C. Marchesi, M. Giorgi Pierfranceschi, M. Crowther, D. Garcia, E. Hylek, D.M. Witt, N.P. Clark, A. Squizzato, D. Imberti, and W. Ageno, *Safety of prothrombin complex concentrates for rapid anticoagulation reversal of vitamin K antagonists. A meta-analysis*. *Thromb Haemost*, 2011. **106**(3): p. 429-38.
 151. Baxter Healthcare Corporation, *FEIBA® (Anti-Inhibitor Coagulant Complex) - Package Insert*. 2013.
 152. Keeling, D. and F. Cotter, *Management of bleeding in patients taking FXa and FIIa inhibitors*. *Br J Haematol*, 2013. **160**(1): p. 1-2.
 153. Baxter Healthcare Corporation. *FEIBA Prescribing Information*. 2013 [03.03.2014]; Available from: http://www.baxter.com/downloads/healthcare_professionals/products/feiba_us_pi.pdf.
 154. Marlu, R., E. Hodaj, A. Paris, P. Albaladejo, J.L. Cracowski, and G. Pernod, *Effect of non-specific reversal agents on anticoagulant activity of dabigatran and rivaroxaban: a randomised crossover ex vivo study in healthy volunteers*. *Thromb Haemost*, 2012. **108**(2): p. 217-24.
 155. Kalus, J.S., *Pharmacologic interventions for reversing the effects of oral anticoagulants*. *Am J Health Syst Pharm*, 2013. **70**(10 Suppl 1): p. S12-21.
 156. Perzborn, E., A. Gruber, H. Tinel, U.M. Marzec, U. Buetehorn, A. Buchmueller, S. Heitmeier, and V. Laux, *Reversal of rivaroxaban anticoagulation by haemostatic agents in rats and primates*. *Thromb Haemost*, 2013. **110**(1): p. 162-72.
 157. Lauritzen, B., U. Hedner, P.B. Johansen, M. Tranholm, and M. Ezban, *Recombinant human factor VIIa and a factor VIIa-analogue reduces heparin and low molecular weight heparin (LMWH)-induced bleeding in rats*. *J Thromb Haemost*, 2008. **6**(5): p. 804-11.
 158. Levi, M., J.H. Levy, H.F. Andersen, and D. Truloff, *Safety of recombinant activated factor VII in randomized clinical trials*. *N Engl J Med*, 2010. **363**(19): p. 1791-800.
 159. Novo Nordisk, *Fachinformation NovoSeven*. 2013.
 160. Siegal, D.M. and A. Cuker, *Reversal of novel oral anticoagulants in patients with major bleeding*. *J Thromb Thrombolysis*, 2013. **35**(3): p. 391-8.

-
161. Martinowitz, U., G. Kenet, E. Segal, J. Luboshitz, A. Lubetsky, J. Ingerslev, and M. Lynn, *Recombinant activated factor VII for adjunctive hemorrhage control in trauma*. *J Trauma*, 2001. **51**(3): p. 431-8.
 162. Al Douri, M., T. Shafi, D. Al Khudairi, E. Al Bokhari, L. Black, N. Akinwale, M. Osman Musa, A. Al Homaidhi, M. Al Fagih, and R. Borum Andreasen, *Effect of the administration of recombinant activated factor VII (rFVIIa; NovoSeven) in the management of severe uncontrolled bleeding in patients undergoing heart valve replacement surgery*. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2000. **11**(Suppl. 1): p. S121-7.
 163. Hendriks, H.G., J.M. van der Maaten, J. de Wolf, T.W. Waterbolk, M.J. Slooff, and J. van der Meer, *An effective treatment of severe intractable bleeding after valve repair by one single dose of activated recombinant factor VII*. *Anesth Analg*, 2001. **93**(2): p. 287-9.
 164. Shah, N.M., S.E. Chong, S.M. Yusoff, M.Z. Mazlan, K.B. Johan, N. Azman, J.A. Lim, S.M. Mohamad, S.S. Noordin, Z.A. Ghaffar, M.H. Hassan, M.A. Zabidi, and N.A.A. Rahim, *Recombinant activated factor VII (rFVIIa) in refractory haemorrhage for non-haemophiliacs: an eleven-year single-centre experience*. *BMC Hematol*, 2018. **18**: p. 34-40.
 165. Bazil, C.W., E.L. Crouse, V.K. Dalton, D.N. Juurlink, F.M. Muggia, S.K. Mukherjee, D.M. Roden, E.A.K. Schaefer, F.E.R. Simons, N.H. Steigbigel, and A.M.F. Yee, *Andexxa - an antidote for apixaban and rivaroxaban*. *Med Lett Drugs Ther*, 2018. **60**(1549): p. 99-101.
 166. Portola Pharmaceuticals, I., *Full Prescribing Information AndexXa®*. 2017.
 167. Greinacher, A., T. Thiele, and K. Selleng, *Reversal of anticoagulants: an overview of current developments*. *Thromb Haemost*, 2015. **113**(5): p. 931-42.
 168. Mueck, W., L.C. Borris, O.E. Dahl, S. Haas, M.V. Huisman, A.K. Kakkar, P. Kalebo, E. Muelhofer, F. Misselwitz, and B.I. Eriksson, *Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of once- and twice-daily rivaroxaban for the prevention of venous thromboembolism in patients undergoing total hip replacement*. *Thromb Haemost*, 2008. **100**(3): p. 453-61.
 169. Kreutz, R., P.B. Persson, D. Kubitzka, K. Thelen, S. Heitmeier, S. Schwerts, M. Becka, and M. Hemmrich, *Dissociation between the pharmacokinetics and pharmacodynamics of once-daily rivaroxaban and twice-daily apixaban: a randomized crossover study*. *J Thromb Haemost*, 2017. **15**(10): p. 2017-28.
 170. Girgis, I.G., M.R. Patel, G.R. Peters, K.T. Moore, K.W. Mahaffey, C.C. Nessel, J.L. Halperin, R.M. Califf, K.A. Fox, and R.C. Becker, *Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of rivaroxaban in patients with non-valvular atrial fibrillation: results from ROCKET AF*. *J Clin Pharmacol*, 2014. **54**(8): p. 917-27.
 171. Galvao, J., B. Davis, M. Tilley, E. Normando, M.R. Duchon, and M.F. Cordeiro, *Unexpected low-dose toxicity of the universal solvent DMSO*. *Faseb j*, 2013. **28**(3): p. 1317-30.
 172. Attard, C., P. Monagle, D. Kubitzka, and V. Ignjatovic, *The in vitro anticoagulant effect of rivaroxaban in children*. *Thromb Res*, 2012. **130**(5): p. 804-7.

-
173. Conversy, B., M.C. Blais, M. Dunn, C. Gara-Boivin, L. Carioto, and J.R. Del Castillo, *Rivaroxaban demonstrates in vitro anticoagulant effects in canine plasma*. *Vet J*, 2013. **198**(2): p. 437-43.
 174. Doenicke, A., D. Kettler, W.F. List, J. Radke, and J. Tarnow, *Anästhesiologie*. 1995: Springer. S. 288.
 175. CSL Behring, *International package insert Factor X P Behring*. 2010: p. 10.
 176. Chan, N.C., D. Siegal, M.N. Lauw, J.S. Ginsberg, J.W. Eikelboom, G.H. Guyatt, and J. Hirsh, *A systematic review of contemporary trials of anticoagulants in orthopaedic thromboprophylaxis: suggestions for a radical reappraisal*. *J Thromb Thrombolysis*, 2014. **40**(2): p. 231-9.
 177. Gaertner, S., E.M. Cordeanu, S. Nouri, A.M. Faller, A.S. Frantz, C. Mirea, P. Bilbault, P. Ohlmann, I. Le Ray, and D. Stephan, *Rivaroxaban versus standard anticoagulation for symptomatic venous thromboembolism (REMOTEV observational study): Analysis of 6-month outcomes*. *Int J Cardiol*, 2017. **226**: p. 103-9.
 178. Kubitza, D., M. Becka, B. Voith, M. Zuehlsdorf, and G. Wensing, *Safety, pharmacodynamics, and pharmacokinetics of single doses of BAY 59-7939, an oral, direct factor Xa inhibitor*. *Clin Pharmacol Ther*, 2005. **78**(4): p. 412-21.
 179. Kubitza, D., M. Becka, A. Roth, and W. Mueck, *Dose-escalation study of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of rivaroxaban in healthy elderly subjects*. *Curr Med Res Opin*, 2008. **24**(10): p. 2757-65.
 180. Mueck, W., B.I. Eriksson, K.A. Bauer, L. Borris, O.E. Dahl, W.D. Fisher, M. Gent, S. Haas, M.V. Huisman, A.K. Kakkar, P. Kalebo, L.M. Kwong, F. Misselwitz, and A.G. Turpie, *Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of rivaroxaban--an oral, direct factor Xa inhibitor--in patients undergoing major orthopaedic surgery*. *Clin Pharmacokinet*, 2008. **47**(3): p. 203-16.
 181. Zhao, X., P. Sun, Y. Zhou, Y. Liu, H. Zhang, W. Mueck, D. Kubitza, R.J. Bauer, H. Zhang, and Y. Cui, *Safety, pharmacokinetics and pharmacodynamics of single/multiple doses of the oral, direct Factor Xa inhibitor rivaroxaban in healthy Chinese subjects*. *Br J Clin Pharmacol*, 2009. **68**(1): p. 77-88.
 182. Buller, H.R., A.W. Lensing, M.H. Prins, G. Agnelli, A. Cohen, A.S. Gallus, F. Misselwitz, G. Raskob, S. Schellong, and A. Segers, *A dose-ranging study evaluating once-daily oral administration of the factor Xa inhibitor rivaroxaban in the treatment of patients with acute symptomatic deep vein thrombosis: the Einstein-DVT Dose-Ranging Study*. *Blood*, 2008. **112**(6): p. 2242-7.
 183. Adelman, D., M. Wiegele, R.K. Wohlgemuth, S. Koch, S. Frantal, P. Quehenberger, G. Scharbert, S. Kozek-Langenecker, and E. Schaden, *Measuring the activity of apixaban and rivaroxaban with rotational thrombelastometry*. *Thromb Res*, 2014. **134**(4): p. 918-23.
 184. Samama, M.M. and C. Guinet, *Laboratory assessment of new anticoagulants*. *Clin Chem Lab Med*, 2011. **49**(5): p. 761-72.
 185. Hillarp, A., F. Baghaei, I. Fagerberg Blixter, K.M. Gustafsson, L. Stigendal, M. Sten-Linder, K. Strandberg, and T.L. Lindahl, *Effects of the oral, direct factor*

- Xa inhibitor rivaroxaban on commonly used coagulation assays.* J Thromb Haemost, 2011. **9**(1): p. 133-9.
186. Steiner, T., M. Bohm, M. Dichgans, H.C. Diener, C. Ell, M. Endres, C. Epple, M. Grond, U. Laufs, G. Nickenig, H. Riess, J. Rother, P.D. Schellinger, M. Spannagl, and R. Veltkamp, *Recommendations for the emergency management of complications associated with the new direct oral anticoagulants (DOACs), apixaban, dabigatran and rivaroxaban.* Clin Res Cardiol, 2013. **102**(6): p. 399-412.
187. Silva, V.M., M. Scanavacca, F. Darrieux, C. Cavalheiro-Filho, and C.C. Strunz, *Effects of rivaroxaban on coagulation tests in patients with non-valvular atrial fibrillation under real-life conditions.* Thromb Res, 2017. **154**: p. 26-7.
188. Oswald, E., C. Velik-Salchner, P. Innerhofer, H. Tauber, T. Auckenthaler, H. Ulmer, and W. Streif, *Results of rotational thromboelastometry, coagulation activation markers and thrombin generation assays in orthopedic patients during thromboprophylaxis with rivaroxaban and enoxaparin: a prospective cohort study.* Blood Coagul Fibrinolysis, 2015. **26**(2): p. 136-44.
189. Pailleret, C., G. Jourdi, V. Siguret, I. Gouin-Thibault, S. Gandrille, A. Stepanian, E. Curis, J.L. Golmard, P. Gaussem, B. Le Bonniec, and C.M. Samama, *Modified ROTEM for the detection of rivaroxaban and apixaban anticoagulant activity in whole blood.* Eur J Anaesthesiol, 2018. **36**(6): p. 449-56.
190. Gosselin, R.C., D.M. Adcock Funk, J.M. Taylor, S.J. Francart, E.M. Hawes, K.D. Friedman, and S. Moll, *Comparison of anti-Xa and dilute Russell viper venom time assays in quantifying drug levels in patients on therapeutic doses of rivaroxaban.* Arch Pathol Lab Med, 2014. **138**(12): p. 1680-4.
191. Rathbun, S., A. Tafur, R. Grant, N. Esmon, K. Mauer, and R.A. Marlar, *Comparison of methods to determine rivaroxaban anti-factor Xa activity.* Thromb Res, 2015. **135**(2): p. 394-7.
192. Chowdary, P., A. Tang, D. Watson, M. Besser, P. Collins, M.D. Creagh, H. Qureshi, M. Rokicka, T. Nokes, P. Diprose, and R. Gill, *Retrospective Review of a Prothrombin Complex Concentrate (Beriplex P/N) for the Management of Perioperative Bleeding Unrelated to Oral Anticoagulation.* Clin Appl Thromb Hemost, 2018. **24**(7): p. 1159-69.
193. Schochl, H., U. Nienaber, G. Hofer, W. Voelckel, C. Jambor, G. Scharbert, S. Kozek-Langenecker, and C. Solomon, *Goal-directed coagulation management of major trauma patients using thromboelastometry (ROTEM)-guided administration of fibrinogen concentrate and prothrombin complex concentrate.* Crit Care, 2010. **14**(2): p. R55.
194. Bruce, D. and T.J. Nokes, *Prothrombin complex concentrate (Beriplex P/N) in severe bleeding: experience in a large tertiary hospital.* Crit Care, 2008. **12**(4): p. R105.
195. Dinkelaar, J., P.J. Molenaar, M. Ninivaggi, B. de Laat, H.J. Brinkman, and A. Leyte, *In vitro assessment, using thrombin generation, of the applicability of prothrombin complex concentrate as an antidote for Rivaroxaban.* J Thromb Haemost, 2013. **11**(6): p. 1111-8.

-
196. Godier, A., A. Miclot, B. Le Bonniec, M. Durand, A.M. Fischer, J. Emmerich, C. Marchand-Leroux, T. Lecompte, and C.M. Samama, *Evaluation of prothrombin complex concentrate and recombinant activated factor VII to reverse rivaroxaban in a rabbit model*. *Anesthesiology*, 2012. **116**(1): p. 94-102.
 197. Herzog, E., F. Kaspereit, W. Krege, J. Mueller-Cohrs, B. Doerr, P. Niebl, and G. Dickneite, *Correlation of coagulation markers and 4F-PCC-mediated reversal of rivaroxaban in a rabbit model of acute bleeding*. *Thromb Res*, 2015. **135**(3): p. 554-60.
 198. Dickneite, G. and M. Hoffman, *Reversing the new oral anticoagulants with prothrombin complex concentrates (PCCs): what is the evidence?* *Thromb Haemost*, 2014. **111**(2): p. 189-98.
 199. Schultz, N.H., H.T.T. Tran, S. Bjornsen, C.E. Henriksson, P.M. Sandset, and P.A. Holme, *The reversal effect of prothrombin complex concentrate (PCC), activated PCC and recombinant activated factor VII against anticoagulation of Xa inhibitor*. *Thromb J*, 2017. **15**: p. 6-14.
 200. Dager, W.E., A.J. Roberts, and D.K. Nishijima, *Effect of low and moderate dose FEIBA to reverse major bleeding in patients on direct oral anticoagulants*. *Thromb Res*, 2019. **173**: p. 71-6.
 201. Ehrlich, H.J., M.J. Henzl, and E.D. Gomperts, *Safety of factor VIII inhibitor bypass activity (FEIBA): 10-year compilation of thrombotic adverse events*. *Haemophilia*, 2002. **8**(2): p. 83-90.
 202. Hedner, U. and C.A. Lee, *First 20 years with recombinant FVIIa (NovoSeven)*. *Haemophilia*, 2011. **17**(1): p. e172-82.
 203. Arellano-Rodrigo, E., I. Lopez-Vilchez, A.M. Galan, P. Molina, J.C. Reverter, X. Carne, J. Villalta, D. Tassies, M. Lozano, M. Diaz-Ricart, and G. Escolar, *Coagulation Factor Concentrates Fail to Restore Alterations in Fibrin Formation Caused by Rivaroxaban or Dabigatran in Studies With Flowing Blood From Treated Healthy Volunteers*. *Transfus Med Rev*, 2015. **29**(4): p. 242-9.
 204. Korber, M.K., E. Langer, L. Kaufner, M. Sander, and C. Von Heymann, *In vitro reversal of supratherapeutic rivaroxaban levels with coagulation factor concentrates*. *Blood Transfus*, 2016. **14**(5): p. 481-6.
 205. Samuelson, B.T., A. Cuker, D.M. Siegal, M. Crowther, and D.A. Garcia, *Laboratory Assessment of the Anticoagulant Activity of Direct Oral Anticoagulants: A Systematic Review*. *Chest*, 2017. **151**(1): p. 127-38.
 206. Douxfils, J., W. Ageno, C.M. Samama, S. Lessire, H. Ten Cate, P. Verhamme, J.M. Dogne, and F. Mullier, *Laboratory testing in patients treated with direct oral anticoagulants: a practical guide for clinicians*. *J Thromb Haemost*, 2018. **16**(2): p. 209-19.
 207. Douxfils, J. and R.C. Gosselin, *Laboratory Assessment of Direct Oral Anticoagulants*. *Semin Thromb Hemost*, 2017. **43**(3): p. 277-290.
 208. Levy, J.H., W. Ageno, N.C. Chan, M. Crowther, P. Verhamme, and J.I. Weitz, *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**(3): p. 623-7.

-
209. Nogi, K., K. Kawasugi, M. Matsuzawa, Y. Okufuji, C. Shimadu, Y. Miyazawa, and T. Furukawa, *Changes in PT and APTT When Administrating Rivaroxaban, a Direct Inhibitor of Activated Factor X*. *Rinsho Byori*, 2015. **63**(2): p. 194-200.

8 Anhang

8.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.1

Intrinsisches und extrinsisches System und zugehörige Gerinnungstests 10

Abbildung 1.2

Stark vereinfachtes Schema der primären Hämostase..... 12

Abbildung 1.3

Angriffspunkte von Antikoagulanzen 17

Abbildung 1.4

Risikofaktoren für eine venöse Thromboembolie 23

Abbildung 1.5

TDT-Testprinzip..... 28

Abbildung 1.6

Prinzip der Thromboelastometrie (ROTEM®) 29

Abbildung 1.7

Exemplarische Darstellung der ROTEM®-Parameter am Beispiel
eines EXTEM-Normalbefundes 30

Abbildung 4.1

Einfluss von Rivaroxaban in verschiedenen Konzentrationen
auf den Quickwert (Tissue factor Neoplastin)..... 47

Abbildung 4.2

Einfluss von Rivaroxaban in verschiedenen Konzentrationen
auf den Quickwert (Tissue factor Recombiplastin)..... 47

Abbildung 4.3

Antagonisierung von Rivaroxaban mit PPSB Darstellung des Quickwerts (Tissue factor Neoplastin)	48
Abbildung 4.4 Antagonisierung von Rivaroxaban mit PPSB Darstellung des Quickwerts (Tissue factor Recombiplastin)	48
Abbildung 4.5 Antagonisierung von Rivaroxaban mit Feiba Darstellung des Quickwertes (Tissue factor Neoplastin)	49
Abbildung 4.6 Antagonisierung von Rivaroxaban mit Feiba Darstellung des Quickwertes (Tissue factor Recombiplastin)	49
Abbildung 4.7 Antagonisierung von Rivaroxaban mit rFVIIa Darstellung des Quickwertes (Tissue factor Neoplastin)	50
Abbildung 4.8 Antagonisierung von Rivaroxaban mit rFVIIa Darstellung des Quickwertes (Tissue factor Recombiplastin)	50
Abbildung 4.9 Einfluss von Rivaroxaban in verschiedenen Konzentrationen auf die aPTT-SP	52
Abbildung 4.10 Einfluss von Rivaroxaban in verschiedenen Konzentrationen auf die aPTT-SS	52
Abbildung 4.11 Antagonisierung von Rivaroxaban mit PPSB. Darstellung der aPTT-SP	53

Abbildung 4.12

Antagonisierung von Rivaroxaban mit PPSB. Darstellung der aPTT-SS 53

Abbildung 4.13

Antagonisierung von Rivaroxaban mit Feiba. Darstellung der aPTT-SP 54

Abbildung 4.14

Antagonisierung von Rivaroxaban mit Feiba. Darstellung der aPTT-SS 54

Abbildung 4.15

Antagonisierung von Rivaroxaban mit rFVIIa. Darstellung der aPTT-SP 55

Abbildung 4.16

Antagonisierung von Rivaroxaban mit rFVIIa. Darstellung der aPTT-SS 55

Abbildung 4.17

Einfluss von Rivaroxaban in verschiedenen Konzentrationen auf den TDTex..... 57

Abbildung 4.18

Einfluss von Rivaroxaban in verschiedenen Konzentrationen auf den TDTin 57

Abbildung 4.19

Antagonisierung von Rivaroxaban mit PPSB. Darstellung des TDTex 58

Abbildung 4.20

Antagonisierung von Rivaroxaban mit PPSB. Darstellung des TDTin..... 58

Abbildung 4.21

Antagonisierung von Rivaroxaban mit Feiba®. Darstellung des TDTex 59

Abbildung 4.22

Antagonisierung von Rivaroxaban mit Feiba®. Darstellung des TDTex 59

Abbildung 4.23

Antagonisierung von Rivaroxaban mit rFVIIa. Darstellung des TDTex 60

Abbildung 4.24

Antagonisierung von Rivaroxaban mit rFVIIa. Darstellung des TDTin 60

Abbildung 4.25

Einfluss von Rivaroxaban in verschiedenen Konzentrationen auf die Clotting time..... 61

Abbildung 4.26

Antagonisierung von Rivaroxaban mit Feiba. Darstellung der Clotting time 62

Abbildung 4.27

Antagonisierung von Rivaroxaban mit rFVIIa. Darstellung der Clotting time 63

Abbildung 4.28Einfluss von Rivaroxaban in verschiedenen Konzentrationen auf
die Anti-Faktor Xa-Aktivität 64

8.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1.1	Zusammenfassung von Indikationen, Dosierungen und Zulassungsjahr von Rivaroxaban.....	19
Tabelle 1.2	Häufigkeiten tiefer Beinvenenthrombosen in der operativen und konservativen Medizin ohne Prophylaxe.....	21
Tabelle 3.1	In Beriplex® (PPSB) enthaltene Gerinnungsfaktoren.....	39
Tabelle 8.1	Versuche zum Dilutionseffekt	104
Tabelle 8.2	Einfluss von DMSO auf TDTin und TDTex	105

8.3 Nebenversuche

8.3.1 Versuche mit NaCl

Um einen möglichen Dilutionseffekt durch die Zugabe von Rivaroxaban bzw. den Faktorenkonzentraten auszuschließen, testeten wir in einer Messreihe von $n=5$, ob eine Zugabe von $36\mu\text{l}$ NaCl (entspricht dem Volumen der Zugabe bei einer Konzentration von $0,15\mu\text{g/ml}$ Rivaroxaban) zu Plasma eine statistisch signifikante Veränderung der Messergebnisse zur Folge hat.

Eingesetzte Messmethoden:

1. Quickwert (Prothrombinzeit, PT) mit jew. zwei Testansätzen (Tissue factor: Recombiplastin bzw. Neoplastin)
2. aPTT-SS und aPTT-SP
3. TDT mit intrinsischer und extrinsischer Aktivierung (TDTin und TDTex)
4. ROTEM® mit extrinsischer Aktivierung (EXTEM)
5. Anti-Faktor Xa-Aktivität mit Rivaroxabankalibratoren und -kontrollen

Hier zeigte sich nur beim Quickwert mit dem Tissue factor Recombiplastin ein statistisch signifikanter Dilutionseffekt durch die Zugabe von $36\mu\text{l}$ NaCl ($p>0,05$) (siehe Tabelle 8.1).

Tabelle 8.1 Versuche zum Dilutionseffekt. Angegeben sind jew. die Mittelwerte. Die Grenze der Signifikanz wurde bei $p < 0,05$ festgelegt. Außer beim Quickwert mit dem Tissue factor Recombiplastin zeigte sich in keinem der Testverfahren ein statistisch signifikanter Dilutionseffekt

Testverfahren	Leerwert	36 μ l NaCl	p-Wert
Quick Neoplastin [%]	94	90,7	0,110
Quick Recombiplastin [%]	85,3	91,4	0,013
aPTT-SP [s]	30,0	30,5	0,570
aPTT-SS [s]	30,0	30,1	0,876
TDTex [%]	85,3	91,4	0,111
TDTin [%]	85,9	95,1	0,623
EXTEM CT [s]	48,8	52,4	0,342

8.3.2 Einfluss von DMSO

Um einen möglichen Effekt von DMSO auf unsere Messergebnisse auszuschließen, testeten wir in einer Messreihe von $n=5$, ob eine Zugabe von 36 μ l bzw. 48 μ l DMSO (entspricht dem Volumen der Zugabe bei einer Konzentration von 0,15 μ g/ml bzw. 0,20 μ g/ml Rivaroxaban) eine statistisch signifikante Veränderung der Messergebnisse zur Folge hat. Hierbei war DMSO in einem Verhältnis von 1:1 mit Wasser für Injektionszwecke verdünnt.

Eingesetzte Messmethoden:

Thrombin dynamics test mit intrinsischer Aktivierung (TDTin)

Thrombin dynamics test mit extrinsischer Aktivierung (TDTex)

Es zeigte sich kein statistisch signifikanter Einfluss von DMSO auf den Thrombin dynamics test (siehe Tabelle 8.2).

Tabelle 8.2 Einfluss von DMSO auf TDTin und TDTex

Messverfahren	Leerwert	36 µl DMSO	48 µl DMSO
TDTin [%]	84,19	90,68	88,77
TDTex [%]	97,59	96,76	96,15

Außerdem wurden in einer Messreihe von $n=5$ verschiedene Rivaroxabanlösungen mit unterschiedlichen DMSO-Konzentrationen getestet. Hierbei wurde Rivaroxaban jeweils in DMSO und Aqua im Verhältnis von 1:1; 1:4 und 1:8 in Lösung gebracht. Bei Zugabe von 24 µl der jeweiligen Rivaroxaban-Stammlösung zu 500 µl Plasma (entspricht 0,10 µg/ml Rivaroxaban), waren weder in der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (aPTT-SS) noch im Quickwert mit Neoplastin als Tissue factor statistisch signifikante Unterschiede beim Vergleich der einzelnen Rivaroxabanlösungen sichtbar.

9 Danksagung

Herrn Prof. Bernhard Heindl danke ich für die Überlassung des Themas, seine Geduld und die stets konstruktive und gute Zusammenarbeit.

Frau Dr. Susanne Lison danke ich für ihre ausgezeichnete Betreuung. Sie hatte immer ein offenes Ohr, war stets engagiert und interessiert und steckte mich schnell mit ihrem Enthusiasmus für das Thema an.

Allen MitarbeiterInnen des hämostaseologischen Speziallabors am Campus Innenstadt der Abteilung für Transfusionsmedizin, Zelltherapeutika und Hämostaseologie der LMU München möchte ich für die gute Einarbeitung und ihre engagierte Unterstützung bei der Durchführung der Versuche danken.

Mein besonderer Dank gilt meinen Kindern für ihre Geduld, sowie meinen Eltern und Alexander für ihre Unterstützung und Ermutigung.



LUDWIG-
MAXIMILIANS-
UNIVERSITÄT
MÜNCHEN

Promotionsbüro
Medizinische Fakultät



Eidesstattliche Versicherung

Heimbach, Lena

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel

Monitoring und Antagonisierung des Faktor Xa-Inhibitors Rivaroxaban

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.

Stuttgart, 22. April 2023

Ort, Datum

Lena Heimbach

Unterschrift Doktorandin bzw. Doktorand