

Aus der Klinik für Anaesthesiologie
Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München



**Analyse thrombelastometrischer Gerinnungsteste zur
Detektion einer Koagulopathie bei Notfallpatienten-
Differenzierung von direkten oralen Antikoagulanzen**

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

vorgelegt von

Jennifer Evelyn Butte

aus Kassel, Deutschland

2024

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

Erstes Gutachten: Prof. Dr. Simon Schäfer

Zweites Gutachten: Priv. Doz. Dr. Patrick Möhnle

Drittes Gutachten: Priv. Doz. Dr. Johannes Tschöp

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 18.06.2024

Eidesstattliche Versicherung

Jennifer Evelyn Butte

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel

" Analyse thrombelastometrischer Gerinnungstest zur Detektion einer Koagulopathie bei Notfallpatienten – Differenzierung von direkten oralen Antikoagulanzen "

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 Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, den 01.07.2024

Jennifer Evelyn Butte

Publikationen

Teile der vorliegenden Dissertation wurden bereits veröffentlicht:

Groene P, Butte J, Thaler S, Görlinger K, Schäfer ST.

Modified thromboelastometric tests provide improved sensitivity and specificity to direct oral anticoagulants compared to standard thromboelastometric tests in-vitro. *Thrombosis Journal*. 2022;20(1):40.(1)

Weitere (nicht themabezogene) Publikationen:

Thaeter L, Schröder H, Henze L, Butte J, Henn P, Rossaint R, et al. Handover training for medical students: a controlled educational trial of a pilot curriculum in Germany. *BMJ Open*. 2018;8(9):e021202.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	7
1.1	Direkte Orale Antikoagulanzen (DOAKs)	7
1.2	Pharmakologische Eigenschaften der DOAKs	10
1.3	Monitoring der DOAK-Therapie	12
1.3.1	Allgemeines	12
1.3.2	Einfluss auf plasmatische Standardgerinnungsteste und Detektionsmöglichkeiten	13
1.3.3	DOAKs in der PoC-Diagnostik	15
1.4	Antidots	16
1.5	Hintergrund der Studie	17
2	Fragestellung	18
3	Material und Methoden	19
3.1	In-vitro Protokoll	19
3.1.1	Probanden	19
3.1.2	Versuchsdurchführung	20
3.1.2.1	Erstellung der DOAK-Lösung	20
3.1.2.2	Erstellung der in-vitro Verdünnungsreihe	21
3.2	In-vivo Protokoll	22
3.2.1	Patienten	22
3.2.2	Versuchsdurchführung	22
3.3	Viskoelastometrie	22
3.3.1	ROTEM® delta Testverfahren	25
3.4	Testverfahren Institut für Laboratoriumsmedizin der LMU	26
3.5	Statistische Analyse	27
4	Ergebnisse	28
4.1	In Vitro	28
4.1.1	Probandencharakteristika	28

4.1.2 Dosis-Wirkungskurven.....	29
4.1.3 Korrelation CT mit Anti-Xa-Aktivität	38
4.2 In-Vivo	39
4.2.1 Patientencharakteristika	39
4.2.2 Auswertung in-vivo Daten.....	42
4.2.3 Überprüfung des Algorithmus	57
5 Diskussion.....	59
5.1 Hypothese 1.....	59
5.2 Hypothese 2.....	65
5.3 Hypothese 3.....	67
5.4 Limitationen.....	72
6 Zusammenfassung	73
7 Abkürzungsverzeichnis	74
8 Abbildungsverzeichnis	76
9 Tabellenverzeichnis.....	78
10 Materialliste	79
10.1 Software.....	79
10.2 Klinische Messgeräte	79
10.3 Laborgeräte	80
10.4 Laborbedarf.....	81
10.5 Weitere Reagenzien	82
11 Literaturverzeichnis.....	83
12 Danksagung	88

1 Einleitung

Die Detektion einer Koagulopathie bei Notfallpatienten kann entscheidend für die suffiziente Therapie, insbesondere bei blutenden Patienten oder solchen mit thrombembolischen Ereignissen, sein.

Hierbei ist es essenziell umgehend Informationen über angeborene und /oder erworbene Koagulopathien zu erhalten. In vielen Fällen können uns Patienten oder deren Angehörige keine Informationen über eingenommene Antikoagulanzen, die letztlich auch eine Koagulopathie verursachen, in Kenntnis setzen. Daher ist eine Diagnostik erforderlich, die diese Informationen eruieren kann. Hierfür eignen sich sowohl Standardgerinnungsteste als auch funktionelle Tests, die die primäre Hämostase als auch die plasmatische Gerinnung funktionell überprüfen (2).

Bis vor wenigen Jahren waren antikoagulatorische Dauertherapien auf wenige Substanzen begrenzt (z.B. Vitamin-K-Antagonisten). Mit der Einführung der direkten oralen Antikoagulanzen hat sich dieses Bild jedoch deutlich verändert: Die möglichen Koagulopathien bei Notfallpatienten haben sich noch einmal erweitert und müssen ebenfalls schnell erkannt werden (3, 4, 5, 6, 7, 8)

1.1 Direkte Orale Antikoagulanzen (DOAKs)

Im Jahr 2008 erhielten die beiden direkten orale Antikoagulanzen Rivaroxaban und Dabigatran – unter den Handelsnamen Xarelto® beziehungsweise Pradaxa® - die Marktzulassung durch die Europäische Kommission (3, 4). Rivaroxaban wurde zunächst zur Prophylaxe venöser Thrombosen nach Hüft- oder Kniegelenksendoprothetik für eine perioperative Anwendung empfohlen (9). In den folgenden Jahren wurde der Markt der direkten Oralen Antikoagulantien (DOAK) durch Apixaban (2011) und Edoxaban (2015) ergänzt (5, 6).

Apixaban, Edoxaban sowie Rivaroxaban gehören zu den hochselektiven direkten und reversiblen Faktor-Xa-Inhibitoren wohingegen Dabigatran ein direkter reversibler Faktor-IIa (Thrombin-) Hemmer ist (10, 11, 12).

Sowohl Faktor X als auch Faktor II sind Enzyme der gemeinsamen Endstrecke des extrinsischen und intrinsischen Gerinnungssystems, welche mit der Aktivierung von Faktor X zu Faktor Xa eingeleitet wird (13).

Faktor Xa ist eine Serin-Protease (Enzym der Gerinnungskaskade), bindet Faktor Va auf der Zelloberfläche aktivierter Thrombozyten und bildet den Prothrombinase Komplex. So wird schließlich Prothrombin (Faktor II) zu Thrombin (Faktor IIa) umgewandelt (11, 14). Thrombin spaltet lösliches Fibrinogen zu Fibrinmonomeren, die sich spontan zu einem

Einleitung

Polymernetz zusammenlagern. Thrombin aktiviert außerdem Faktor XIII, welcher die Fibrinpolymere kovalent verknüpft (13).

In der folgenden Abbildung 1 wird der Bindungsort der DOAKs in der Gerinnungskaskade dargestellt (15):

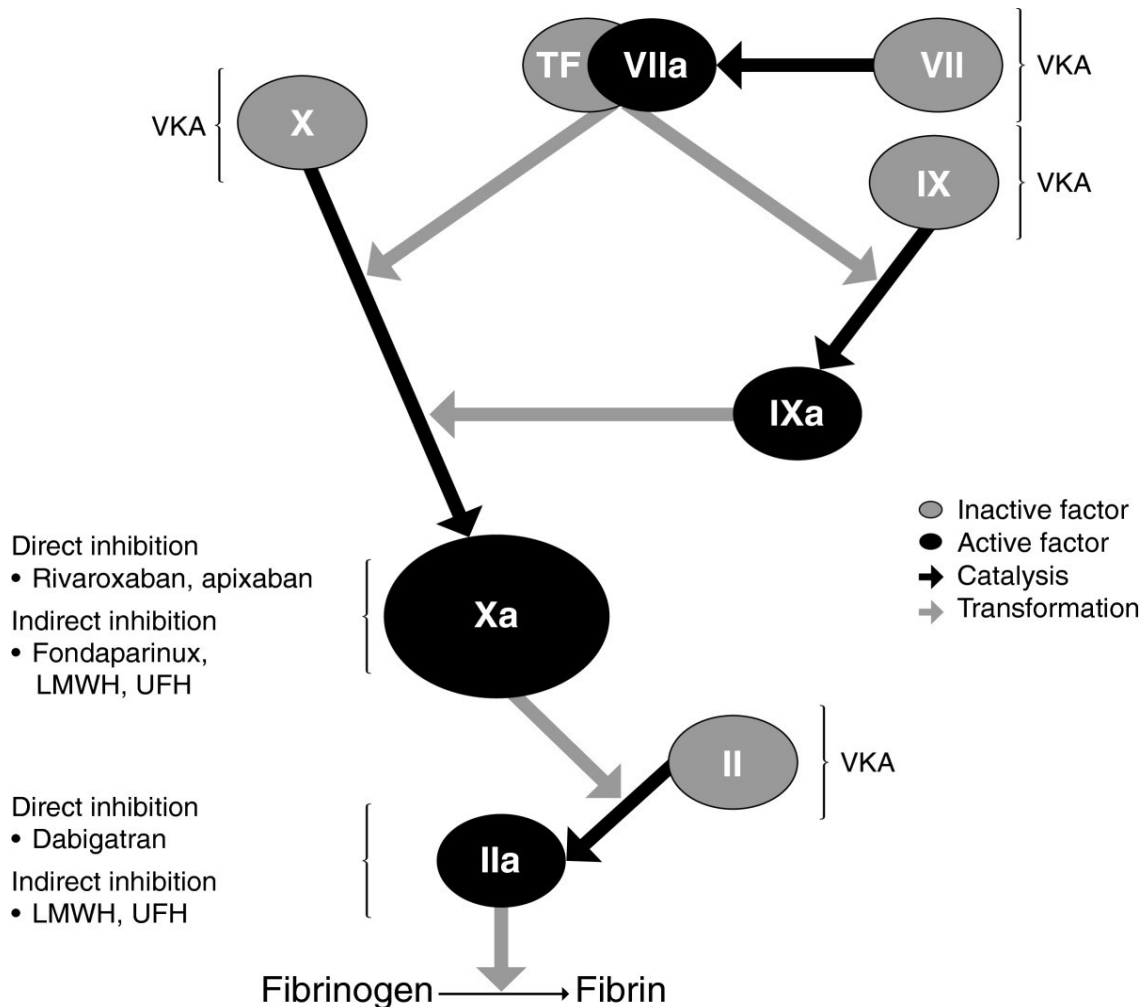


Abbildung 1: Ausschnitt der Gerinnungskaskade und Angriffspunkt verschiedener Antikoagulanzen. LMWH: Low Molecular Weight Heparin; TF: Tissue Factor; UFH: Unfractionated Heparin; VKA: Vitamin-K-Antagonist. Entnommen aus (15) mit der Genehmigung i. R. von Open Access Article (Creative Commons CC BY license; Copyright © 2013 Mueck et al.; licensee BioMed Central Ltd).

Xa-Inhibitoren binden hochselektiv sowohl freien als auch gerinnselgebundenen Faktor Xa, inhibieren die Prothrombinase-Aktivität und benötigen kein Antithrombin III für den antithrombotischen Wirkeffekt (10, 11, 16). Damit verhindern sie zum einen die Bildung eines Thrombus, zum anderen können sie bereits entstandene Thromben verkleinern bzw. auflösen (10, 11, 16).

Dabigatran ist ein Prodrug, welches in aktiver Form die Thrombin-Aktivität und -Generation kompetitiv und reversibel inhibiert (17).

Einleitung

Bis zur Markteinführung der DOAKs waren Cumarine wie Warfarin oder Phenprocoumon die maßgeblich eingesetzten oralen Antikoagulanzen (18). Nachteile dieser auch Vitamin-K-Antagonisten (VKA) genannten Substanzen sind Interaktionen mit anderen Medikamenten, inter- und intraindividuelle Unterschiede bei Dosis-Wirkungs-Effekten (z.B. bedingt durch Alter, Komorbiditäten, genetische Polymorphismen, Wirkabhängigkeit von der Vitamin K Zufuhr über die Nahrung), eine geringe therapeutische Breite und als Konsequenz die Notwendigkeit regelmäßigen Monitorings durch Blutentnahmen und INR-Bestimmung (International Normalized Ratio). Diese Aspekte haben die Entwicklung neuer oraler Antikoagulanzen angetrieben (18, 19).

Aufgrund der pharmakologischen und -kinetischen Vorhersagesicherheit der DOAKs ist deren Einnahmeschema im Vergleich zu VKA einfach (18). Zudem ist das Blutungsrisiko unter DOAKs niedriger als unter Marcumar, weswegen sie als sicherere Alternative bewertet werden (20, 21, 22).

Im Jahr 2021 lag der Anteil der DOAKs an der Gesamtverordnung aller oralen Antikoagulantien in Deutschland bei 83% (23). Der Arzneimittelreport von 2021 ergibt, dass unter den oralen Antikoagulanzen die Verordnung von DOAKs in Deutschland auch weiterhin deutlich zugenommen hat und im Vergleich zum Vorjahr um 10% höher liegt (23). Seit 2019 ist Apixaban zudem das häufigste verordnete DOAK (23).

Indikationen zur Einnahme eines oralen Antikoagulanz sind die Therapie thrombembolischer Ereignisse oder die Schlaganfallprophylaxe bei valvulären Vorhofflimmern.

Der ESC-Leitlinie (European Society of Cardiology) von 2020 nach lassen sich 20 - 30% aller ischämischen Schlaganfälle auf kardioembolische Ereignisse bei Vorhofflimmern zurückführen. Das Schlaganfallrisiko bei Patienten mit Vorhofflimmern hängt zudem von weiteren Risikofaktoren ab, die mit Hilfe des CHA₂DS₂-VASc-Score¹ ermittelt werden. Der Risikostratifizierung für Apoplexe steht die Bewertung des Blutungsrisikos unter einer prophylaktischen blutverdünnenden Therapie gegenüber, welche im HAS-BLED-Score² erfasst wird. Die Leitlinie empfiehlt ab einem CHA₂DS₂-VASc-Score von 2 Punkten bei Männern beziehungsweise 3 Punkten bei Frauen eine Schlaganfallprävention, bevorzugt mittels DOAK. Vitamin-K-Antagonisten werden

¹ CHA₂DS₂-VASc -Score erfasst Herzinsuffizienz, Hypertonie, Alter ≥ 75 Jahre, Diabetes mellitus, Schlaganfall, vaskuläre Erkrankungen, Alter 65 - 74 Jahre, weibliches Geschlecht

² HAS-BLED-Score erfasst Hypertonie, Leber- und Nierenfunktionsstörung, Schlaganfall, Blutung oder Blutungsneigung, Labiler INR, Alter > 65 Jahre, Medikamente wie Nicht-Steroidale-Antirheumatika oder Alkoholkonsum

Einleitung

primär bei Patienten mit mechanischen Herzklappen oder mittelschwerer bis schwerer Mitralklappenstenose empfohlen (24).

Eine weitere Indikation für DOAKs ist die Lungenarterienembolie, wobei sich die Akutphase-Therapie nach deren Schweregrad richtet. Bei der Intermediär- oder Niedrigrisiko-Lungenarterienembolie³ ist die Antikoagulation (initial parenteral mit niedermolekularen Heparinen, Fondaparinux oder unfraktioniertem Heparin; alternativ unmittelbar oral bei hämodynamisch stabilen Patienten ohne absehbar notwendige Reperfusionstherapie) entscheidender Therapiebaustein. In diesen Fällen sieht die ESC-Leitlinie von 2019 den Einsatz von DOAKs bei fehlenden Kontraindikationen einem VKA vorzuziehen. Bei Patienten, die unter schwerer Niereninsuffizienz oder Antiphospholipid-Syndrom leiden, ebenso wie bei Schwangeren und Stillenden, ist der Einsatz eines DOAK nicht empfohlen. Eine therapeutische Antikoagulation für mindestens drei Monate wird für alle Patienten empfohlen. Abhängig von individuellen Rezidivrisiko und Blutungsrisiko unter Antikoagulation wird die Verlängerung der Therapie evaluiert (25, 26).

1.2 Pharmakologische Eigenschaften der DOAKs

In Tabelle 1 und Abbildung 2 werden die pharmakokinetischen Eigenschaften der einzelnen DOAKs zusammengefasst. Daraus ergeben sich auch die Differentialindikationen und potenziellen Interaktionen beim klinischen Einsatz (27).

Die unterschiedliche Pharmakokinetik der DOAKs ist auch in Notfallsituationen, wie lebensbedrohlichen Blutungen oder dringenden OP-Indikationen, relevant.

Für die Abschätzung von Blutungskomplikationen unter einer DOAK-Therapie ist zu beachten, dass der Plasmaspitzenpegel nach 2-4 h erreicht wird und 24 h nach Einnahme von einem Plasmaspiegel ohne relevanten Effekt auf Blutungen auszugehen ist (22, 27). Der Abbau des Pharmakons kann allerdings durch eine bestehende Niereninsuffizienz - als häufige Komorbidität kardial erkrankter Patienten - verzögert sein (Dabigatran > Edoxaban > Rivaroxaban > Apixaban) (22, 27). Ebenso zeigt sich in älteren, fragilen Patienten oftmals eine verlängerte Halbwertszeit und das Erreichen/Vorhandensein der Spitzenplasmakonzentration kann sehr individuell sein (8, 27).

³ Klassifizierung nach frühem Sterberisiko durch Erfassung von Risiko-Indikatoren: Hämodynamische Instabilität, Klinische Parameter des LAE-Schweregrads bzw. Komorbiditäten, Rechtsventrikuläre Dysfunktion, erhöhte kardiale Troponin-Spiegel

Einleitung

Tabelle 1: Absorption und Metabolismus verschiedener DOAKs.

	Apixaban	Edoxaban	Rivaroxaban	Dabigatran
Orale Bioverfügbarkeit	50%	62%	15 mg/ 20 mg: 66% ohne Nahrung, 100% mit Nahrung	3-7%
Prodrug	nein	nein	nein	ja
Clearance non-renal/ renal	73%/ 27%	50/ 50%	65%/ 35%	20%/ 80%
Plasmaproteinbindung	87%	55%	95%	35%
Dialysierbarkeit	14%	Keine Info, nicht dialysierbar	Keine Info, nicht dialysierbar	50-60%
Metabolismus	CYP3A4 (25%), CYP1A2, CYP2J2, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19	CYP3A4 (< 4% der Elimination)	CYP2A4 (18%), CYP2J2	Glucuronidierung
Absorption mit Nahrung	Kein Effekt	6-22% mehr	+ 39% mehr	Kein Effekt
Absorption mit H2B/ PPI	Kein Effekt	Kein Effekt	Kein Effekt	-12-30% (ohne klinische Relevanz)
Zeit zum Erreichen des Spitzenspiegel [h]	3	2-4	2-4	3
Elimination (Halbwertszeit) [h]	12	10-14	5-9 (junge Patienten) 11-13 (ältere Patienten)	12-17

CYP: Cytochrome (Enzymfamilie); H2B: H2-Blocker (Antihistaminika); PPI: Protonenpumpeninhibitor. Entnommen und übersetzt aus (27) mit der Genehmigung von Oxford University Press.

Einleitung

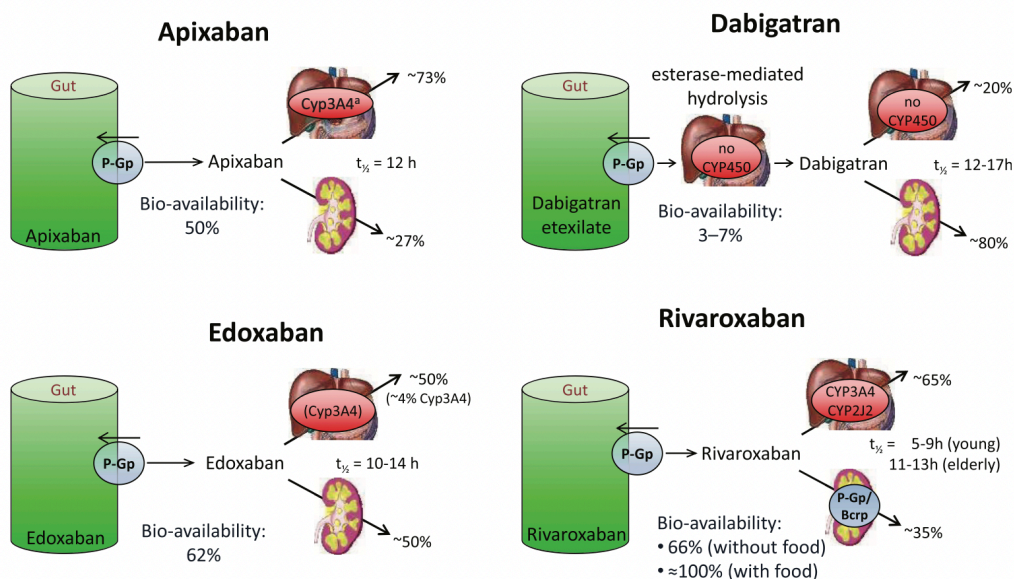


Abbildung 2: Absorption, Metabolismus, Exkretion der DOAKs. P-gp = P-Glykoprotein. $t_{1/2}$ = Plasmahalbwertszeit. Bcrp = Breast resistance cancer protein. Entnommen aus (27) mit der Genehmigung von Oxford University Press.

1.3 Monitoring der DOAK-Therapie

1.3.1 Allgemeines

Das International Council for Standardization in Haematology (ICSH) beschreibt Empfehlungen zum Messen von DOAKs in der Laboratoriumsmedizin. Dabei müssen Laborteste anhand der Anforderung unterschiedlich bewertet werden: Qualitative Bestimmung, Quantitative Bestimmung, Turn-Around-Time (TAT) bis zum Testresultat (28).

Herkömmliche Variablen der Gerinnungsanalyse wie Quick (beziehungsweise Prothrombinzeit) oder aPTT (aktivierte partielle Thromboplastinzeit) korrelieren nur schwach mit der DOAK-Plasmakonzentration und weisen somit eine niedrige Sensitivität und Spezifität zur Quantifizierung von DOAKs auf (28). Das kann zur Folge haben, dass bei normwertigen Routinelaborteste dennoch ein relevanter blutverdünnender Effekt durch DOAKs vorhanden ist (28, 29).

Die Einflüsse der DOAKs auf Gerinnungsteste ist abhängig von der Substanz im Einzelnen, von verwendetem Testreagenz und unterliegt zu dem einer weiten interindividuellen Variabilität (28, 30).

Zur Quantifizierung von DOAKs kommen derzeit die auf die entsprechende Substanz kalibrierten chromogenen Messverfahren (Anti-Xa-Aktivität bzw. Anti-IIa-Aktivität) zum Einsatz (2, 28). Hier stellt allerdings die Verfügbarkeit, beziehungsweise die zügige TAT bis zum Testergebnis, die nicht überall gleichermaßen in der Patientenversorgung gegeben ist, eine weitere Herausforderung dar (28, 29).

Einleitung

Die aktuelle Empfehlung zur Diagnostik bei einem Patienten in der Notfallversorgung, der unter einer DOAK-Therapie steht, besteht in der Bestimmung der Anti-Xa- bzw. Anti-IIa-Aktivität, deren Durchführung jedoch meist länger als 30 min dauert (2).

Hürden im klinischen Alltag zur schnellen und sicheren Detektion von DOAKs liegen also folglich darin, dass

- a) Routine-Teste keine sichere Aussage über Plasmakonzentrationen treffen können und
- b) Teste zur sicheren Detektion (Anti-Xa-Aktivität, Anti-IIa-Aktivität), wenn sie verfügbar sind, einige Zeit zur Bestimmung benötigen.

Ziel ist es ein Point-of-Care (PoC)-Diagnostikum bereit zu stellen, welches eine zügige qualitative als auch quantitative Aussage über eine (D)OAK-Therapie zulässt, d.h.

- die Detektion des Vorhandenseins eines (D)OAKs
- die Differenzierung zwischen II-a-Inhibitoren, Xa-Inhibitoren und VKAs
- den Rückschluss auf die Plasmakonzentration des (D)OAKs als mögliche Grundlage für eine antagonisierende Therapie
- (das Monitoring der Antagonisierung).

1.3.2 Einfluss auf plasmatische Standardgerinnungsteste und Detektionsmöglichkeiten

Wie bereits beschrieben, eignen sich herkömmliche Variablen der plasmatischen Gerinnung wie Quick (bzw. Prothrombinzeit) und aPTT nicht ausreichend zur Detektion beziehungsweise zum Monitoring von DOAKs (28): Die Prothrombinzeit (PT) kann sich unter DOAK-Therapie verlängern. Hierbei verhalten sich die einzelnen Substanzen allerdings unterschiedlich. Es zeigt sich eine hohe Variabilität in den Messergebnissen abhängig von den eingesetzten Reagenzien und der DOAK-Konzentration. Eine Verdopplung der Prothrombinzeit durch Apixaban erfordert Konzentrationsspiegel von 480 ng/ml mit dem sensitivsten Reagenz und bis zu 1000 ng/ml bei Verwendung anderer Reagenzien (28). Für niedrige Plasmaspiegel von Edoxaban (< 30 ng/ml) ergibt sich eine nicht ausreichende Sensitivität. Rivaroxaban Plasmakonzentrationen zwischen 66 und 750 ng/ml können eine Verdopplung der PT bedeuten (28).

Die aPTT verlängert sich nicht-linear konzentrationsabhängig bei Rivaroxaban und Dabigatran. Eine normale aPTT schließt das Vorhandensein eines DOAKs nicht aus. Apixaban führt ab 200 ng/ml zu keiner wesentlichen Verlängerung der aPTT (Plateau) (28).

Einleitung

Die Thrombinzeit (TZ) ist hoch sensitiv für Dabigatran. Eine normwertige TT schließt eine signifikante Dabigatran-Plasmakonzentration aus. Verlängerte TT lassen aber keine Rückschlüsse auf hohe Dabigatran-Plasmakonzentrationen zu (28).

Zu den genauesten quantitativen Messmethoden gehören die LC-MS/MS⁴ oder auf die entsprechende Substanz kalibrierten, Clot-basierten oder chromogenen Testverfahren (28). Bei der LC-MS/MS handelt es sich um ein kombiniertes Verfahren aus Flüssigkeitschromatographie und Massenspektrometrie (31). Limitationen der LC-MS/MS ergeben sich aus der nicht ausreichenden Verfügbarkeit, der komplexen Probenverarbeitung sowie der fehlenden Standardisierung (28). Am Klinikum der Universität München (LMU) kommen die chromogenen Messverfahren (Anti-Xa-Aktivität bzw. Anti-IIa-Aktivität) zum Einsatz (siehe Tabelle 12, (32)).

Für die quantitative Bestimmung von direkten Thrombininhibitoren wie Dabigatran eignen sich folgende kalibrierte Messmethoden (28, 33):

- Diluted Thrombin Time (DTT)
- Ecarinbasierte Messmethoden: Ecarin Clotting Time (ECT) oder Chromogene Ecarin Assays (ECA)
- Chromogene Anti-IIa-Teste.

Die Ecarin Clotting Time (ECT) erlaubt eine Quantifizierung direkter Thrombininhibitoren (DTI). Die Messmethode wurde zu Beginn der 1990er Jahre entwickelt und zum Therapiemonitoring von Hirudin genutzt. Fehlmessungen und damit Limitationen ergeben sich aus stark erniedrigten Fibrinogen- oder Prothrombinspiegeln ebenso aus anderen Verbrauchskoagulopathien (34).

Sowohl die ECT als auch die chromogene Anti-IIa-Aktivität und die DTT stehen in einem linearen Zusammenhang mit der Dabigatran-Plasmakonzentration (28).

Für Xa-Inhibitoren (Apixaban, Edoxaban, Rivaroxaban) eignet sich die substanzspezifischen (kalibrierten) Anti-Xa-Bestimmung als Methode der Wahl und Alternative zur LC-MS/MS (28).

Aktueller Goldstandard zur Überwachung einer Vitamin-K-Antagonisten-Therapie (VKA) ist die Messung der PT (Quick-Wert) beziehungsweise der INR als standardisiertes Messergebnis der PT.

⁴ LC/MS: Verbindung von Flüssigkeitschromatographie (LC) mit Massenspektrometrie (MC). Die Chromatographie dient der Auftrennung einzelner Substanzen; die Massenspektrometrie wird zum Identifizieren und Quantifizieren derselben genutzt.

Einleitung

1.3.3 DOAKs in der PoC-Diagnostik

Eine schnelle, bettseitige Detektion der oralen Antikoagulanzen ist seit vielen Jahren Wunsch im klinischen Alltag. Hierzu gab es in den letzten Jahren bereits einige neue Erkenntnisse.

Seit wenigen Jahren sind die Doasense®-Dipsticks als PoC-Test auf dem Markt. Hierbei handelt es sich um ein semiquantitatives Testverfahren zur Detektion von direkten oralen Antikoagulanzen im Urin. Dabei macht sich das Verfahren zu Nutze, dass circa 30 bis 80% der DOAKs über den Urin ausgeschieden werden und eine mit Enzym und Substrat behaftete Matrix der Dipsticks die Xa-Inhibitoren beziehungsweise IIa-Inhibitoren bindet, was einen Farbumschlag bewirkt. Das Ergebnis ist innerhalb von 10 Minuten nach Inkubation abzulesen (35).

In einer prospektiven (kontrollierten, nicht-randomisierten) Multicenterstudie aus dem Jahr 2020 konnte ein guter prädiktiver Wert für positive als auch negative Testresultate mittels Dipstick gezeigt werden (mindestens 95% korrekte Testresultate im Vergleich zu LC-MS/MS) (36).

Zusätzlich erfolgte eine Kohortenstudie bei Patienten in der Nothilfe (eingeschlossene Patienten n = 265) (37). Hier zeigten sich vielversprechende Ergebnisse mit hoher Sensitivität und Spezifität für die Detektion der DOAKs (37). Anzumerken ist, dass es je nach Studie einen relevanten Anteil falsch positiver Ergebnisse gab.

Das Testverfahren ist limitiert durch abnorme Kreatininwerte bei Niereninsuffizienz oder abnorme Kolorierung des Urins. Zwar ermöglicht es eine schnelle Detektion, lässt allerdings keine sicheren Rückschlüsse auf die Plasmakonzentration zu (28). Für Apixaban konnte zudem gezeigt werden, dass die Plasma- und Urinkonzentration des Pharmakons nicht korrelieren (37). Falsch negative Testergebnisse können durch eine Niereninsuffizienz bedingt sein (37, 38). Man muss außerdem davon ausgehen, dass die DOAK-Konzentration im Urin höher als im Plasma des Patienten ist und sich dieser PoC-Test nicht eignet, um auf vorhandene wirksame Plasmakonzentrationen zurückzuschließen (35). D.h. der DOAK-Dipstick-Test ist geeignet, um eine DOAK-Einnahme auszuschließen. Bei positivem Test kann jedoch nicht auf das Vorliegen einer relevanten Plasmakonzentration geschlossen werden.

Als weitere potenzielle zukünftige Technologien zum Monitoring und Differenzieren von DOAKs werden die Microfluid und Surface Accoustic Wave Technologie sowie die Thrombin Generation Assays (TGA) beschrieben. Die Datenlage für jedes der Messverfahren bedarf jedoch weiterer großangelegter klinische Studien (2).

Einleitung

Die viskoelastische Diagnostik (z.B. ROTEM®, ClotPro®, TEG®) ist bereits seit längerem im klinischen Alltag implementiert und nimmt einen wichtigen Stellenwert im Rahmen von perioperativem Patient Blood Management zur Reduktion von Transfusionen von Blutprodukten ein (39). Eine retrospektive Analyse von Daten aus dem TraumaRegister DGU® aus dem Jahr 2022, welche den Einsatz von ROTEM® bei schwer verletzten Traumapatienten von 2009 bis 2016 auswertete, konnte eine positive Korrelation zwischen dem Einsatz von ROTEM® und einer reduzierten Mortalität aufzeigen (40). Zudem gibt es eine Vielzahl weiterer Studie, die vergleichbare Effekte in verschiedenen Kohorten aufzeigen konnten (41, 42, 43, 44).

Viskoelastometrie zur Detektion und Differenzierung von DOAKs wird als vielversprechendes PoC-Instrument bewertet (45, 46, 47, 48). Eine abschließende Beurteilung hinsichtlich der Sensitivität und Spezifität der Detektion oraler Antikoagulanzen sowie des Rückschlusses auf wirksame Plasmakonzentrationen mit erhöhtem Blutungsrisiko ist jedoch noch nicht umfänglich geklärt (2).

Aufgrund der Einfachheit der Durchführung und der schnellen Verfügbarkeit der Testergebnisse stellen die viskoelastischen Verfahren eine vielversprechende und interessante mögliche Alternative dar. Eine Erweiterung eines bereits etablierten Diagnostikums um eine algorithmusbasierte Analyse könnte die Notfallversorgung von Patienten sinnvoll ergänzen (47). An dieser Stelle knüpft das vorliegende Promotionsthema mit den beschriebenen Fragstellungen an (siehe Kapitel 2).

1.4 Antidots

Bei der Behandlung blutender Patienten oder solchen mit Gerinnungsstörungen und indizierter Lysetherapie bei thrombembolischen Ereignissen kann die Gabe von gerinnungsverbessernden Medikamenten bzw. Antagonisten notwendig werden. Dies kann einerseits durch die Gabe von konzentrierten Gerinnungsfaktoren bei Faktorenmangel (z.B. Hämophilie-Patienten) oder die Applikation von un- bzw. spezifischen Antagonisten bei Einnahme von Gerinnungshemmern geschehen. Bei den seit vielen Jahrzehnten bekannten Medikamenten Heparin und Marcumar geschieht dies über die Gabe von Protamin und Prothrombinkomplex (PPSB).

Als Antidot für Dabigatran wurde ein monoklonales Antikörperfragment, Idarucizumab, entwickelt. Seit einigen Jahren ist zudem ein spezifischer Xa-Inhibitor Antagonist, Andexanet alpha, für Apixaban und Rivaroxaban auf dem Markt verfügbar. Im klinischen Setting wird aber auch nach wie vor Prothrombin-Komplex-Konzentrat zum Aufheben des antikoagulatorischen Effekts durch Xa-Inhibitoren verwendet (49, 50, 51).

Derzeit existieren für die Gabe von Andexanet alpha zwei Dosierungsschemata, jeweils in Form einer Bolusgabe und einer folgenden kontinuierlichen Infusion. Durch

Einleitung

Bestimmung der Anti-Xa-Aktivität mittels kalibrierter chromogener Test konnte eine Reduktion der Xa-Inhibitor-Plasmaspiegel nachgewiesen werden. Eine Anti-Xa-Aktivitätsbestimmung vor Gabe des Antidots wird empfohlen, um eine bessere Entscheidungsgrundlage für die Antagonisierung und die Dosierung des Antidots zu treffen (Blutung und DOAK: Antagonisierung ab 50 ng/ml; dringender Interventionsbedarf mit hohem Blutungsrisiko: Antagonisierung ab 30 ng/ml) (2).

Zukünftige Herausforderungen im Hinblick auf die Detektion von DOAKs ist sicherlich auch das Monitoring des DOAK-Effekts nach Gabe von Antagonisten, um unerwünschte Nebenwirkungen durch Überdosierung zu vermeiden (2). Hier weist eine Metaanalyse von Gómez-Outes et al. auf thrombembolische Komplikationen im Zusammenhang mit der Gabe von Andexanet alpha hin (52). In einer kürzlich beendeten RCT (ANNEXa-I) wurde die Wirksamkeit und Sicherheit von Andexanet alpha weiter evaluiert (53, 54, 55).

1.5 Hintergrund der Studie

Blutungsereignisse als auch thrombembolische Ereignisse sind kritische Ereignisse und bedürfen zumeist einer schnellen Therapie. Hierfür ist jedoch die Kenntnis über das Vorliegen möglicher Koagulopathien essenziell, insbesondere ob Patienten blutverdünnende Medikamente einnehmen.

In Notfallsituationen, insbesondere wenn keine Befunde zu dem Patienten vorliegen und eine Anamnese der aktuellen Medikation nicht möglich ist, ist es folglich von großer Wichtigkeit eine blutverdünnende Therapie – sei es mit DOAK oder VKA – rasch und sicher zu erkennen. Dies ist insofern wichtig, um dann gegebenenfalls eine gezielte Therapie einleiten zu können.

In der vorliegenden Arbeit wird die Möglichkeit der Detektion verschiedener Koagulopathien, insbesondere solcher verursacht durch die Einnahme blutverdünnender Medikamente, mittels thrombelastometrischer Tests untersucht und setzt damit vorangegangene Arbeiten aus diesem Bereich fort (46, 47).

Die Arbeit beinhaltet sowohl eine in-vitro Untersuchung, in der Dosis-Wirkungs-Kurven für Apixaban und Edoxaban erstellt werden, als auch einen in-vivo Teil, in dem ein bereits entwickelter thrombelastometrischer Algorithmus zur Detektion von Koagulopathien, insbesondere DOAKs, überprüft wird (47). Sowohl für den in-vitro als auch für den in-vivo Teil werden neben den thrombelastometrischen Standardtesten (EXTEM, FIBTEM, HEPTM, NATEM) auch modifizierte Tests (TFTEM, ECATEM) verwendet.

Fragestellung

2 Fragestellung

Aus dem wie oben beschriebenen Vorhaben der Forschungsgruppe ergeben sich folgende Hypothesen:

- 1. Die mittels ROTEM® gemessene Clotting Time (CT) im TFTEM korreliert mit Anti-Xa-Aktivität von Apixaban beziehungsweise Edoxaban in-vitro.**
- 2. Xa-Inhibitoren wie Apixaban und Edoxaban haben (im Gegensatz zu direkten Thrombininhibitoren) keinen Einfluss auf die CT im ECATEM in-vitro.**
- 3. Ein bereits erstellter thrombelastometrischer Algorithmus kann zwischen den Koagulopathien verursacht durch OAKs (Xa-Antagonisten, direkter Thrombininhibitor, VKA) und nicht vorhandenen Koagulopathien unterscheiden.**

Die Beschreibung der thrombelastometrischen Teste sowie der einzelnen Parameter findet sich im Kapitel 3 zu Viskoelastometrie.

3 Material und Methoden

Die Erhebung der Daten erfolgte nach positivem Votum der Ethikkommission (17-525 und 19-401).

Alle Probanden (in-vitro Teil) sowie Patienten (in-vivo Teil) wurden sowohl mündlich als auch schriftlich aufgeklärt. Erst nach erfolgter Zustimmung wurde mit der Studie begonnen. Alle Patienten wurden an der LMU München behandelt. Die Blutentnahme erfolgte im Rahmen einer klinisch notwendigen Blutentnahme.

3.1 In-vitro Protokoll

Zur Erstellung von thrombelastometrischen Dosis-Wirkungskurven für Apixaban und Edoxaban wurden Blutproben von jeweils zehn Probanden gewonnen. Von jedem Probanden wurde ein kleines Blutbild angefertigt und die Parameter der plasmatischen Gerinnung wie Quick, aPTT (aktivierte Thromboplastinzeit), INR, Fibrinogen nach Clauss, TZ, die Nierenretentionswerte (Kreatinin und Harnstoff) sowie Albumin in der hiesigen Laboratoriumsmedizin bestimmt. Weiteres Citratblut wurde in-vitro mit jeweils Apixaban beziehungsweise Edoxaban versetzt, wodurch eine Verdünnungsreihe aus sechs Proben mit aufsteigender DOAK-Konzentration (0 µg/l, 32,25 µg/l, 62,5 µg/l, 125 µg/l; 250 µg/l, 500 µg/l) entstand (1).

Die Proben wurden jeweils mittels sechs verschiedener thrombelastometrischer Testverfahren (EXTEM, FIBTEM, HEPTM, NATEM, ECATEM, TFTEM) im ROTEM® delta analysiert. Übriges Citratblut wurde zentrifugiert und aus dem daraus gewonnene Citratplasma wurde erneut Quick, aPTT, INR, Fibrinogen nach Clauss, TZ und die Anti-Xa-Aktivität von Apixaban beziehungsweise Edoxaban im Zentrallabor bestimmt (1).

3.1.1 Probanden

Für die in-vitro ROTEM®-Analysen wurden Probanden gewählt, bei denen keine Koagulopathie oder Erkrankungen des Blutbildes zum Zeitpunkt der Teilnahme bekannt war und die keine die Gerinnung beeinflussende Medikation einnahmen. Hierunter wurden auch Thrombozytenaggregationshemmer wie ASS (Acetylsalicylsäure) und andere NSAR (Nicht Steroidale Antirheumatika) gezählt. Bei Einnahme einer der aufgeführten Substanzen wurde ein zeitlicher Abstand von > 30 d nach ASS- und > 7 d nach NSAR-Einnahme im Vorfeld evaluiert und sicher ausgeschlossen (1).

Die Charakteristika der Probanden finden sich in Tabelle 3.

Material und Methoden

3.1.2 Versuchsdurchführung

Apixaban- und Edoxaban-Reinsubstanzen wurden über BIOZOL (BIOZOL Diagnostica Vertrieb GmbH, Eching, Deutschland) bestellt, um jeweils eine DOAK-Lösung herzustellen. Die entstandene Arbeits- und Stock-Solution wurde im Tiefkühlschrank bei -70°C bis zur weiteren Verwendung gelagert. 1 ml der Arbeitslösung (Teilportionen, s.u.) wurde zu jedem Versuchstag bei Raumtemperatur getaut. Die ROTEM®-Reagenzien wurden vor Verwendung 15 min bei Raumtemperatur gelagert. Der Heizblock wurde bei 37°C gehalten. Pro Versuchstag wurde einem Probanden zweimalig Blut abgenommen, woraus eine Verdünnungsreihe (siehe Tabelle 2) aus sechs Proben erstellt und eine thrombelastometrische Analyse durchgeführt wurde. Die erste Blutentnahme bestand aus einem Serum-, einem EDTA- und neun Citratröhrchen à 5 ml. Serum-, EDTA- und ein Citratblut-Röhrchen wurden in die Laboratoriumsmedizin eingeschickt. Aus dem übrigen Citratblut der ersten Blutentnahme wurde Probe 1 - 4 der Verdünnungsreihe erstellt und jeweils vor der ROTEM®-Analyse zehn Minuten bei 37°C inkubiert. Nach spätestens vier Stunden wurde das Blut verworfen. Eine zweite Blutentnahme desselben Probanden wurde durchgeführt, woraus die letzten beiden Verdünnungen der Reihe (Probe 5 und 6) erstellt wurden, welche ebenso bei 37°C für zehn Minuten inkubiert und im Anschluss mittels ROTEM® analysiert wurden. Es wurden EXTEM, FIBTEM, HEPTM, NATEM, ECATEM und TFTEM als ROTEM®-Teste für jede Probe 1 – 6 in randomisierter Reihenfolge gemessen. Jeder Testkanal wurde für mindestens 70 min (maximal 90 min) laufen gelassen.

Das überschüssige Citratblut der Proben 1 - 6 wurde 30 Minuten bei 2000 G und 21°C zentrifugiert und das daraus gewonnene Plasma vom Zellpellet abpipettiert und getrennt. Von Probe 1 wurde das gewonnene Plasma bei -70°C asserviert, von den anderen Proben 2 - 6 Probe wurde jeweils mindestens 550 μl Plasma asserviert und 550 μl ins Zentrallabor zur weiteren Analyse gegeben.

3.1.2.1 Erstellung der DOAK-Lösung

Die pulverförmig vorliegenden Substanzen Apixaban und Edoxaban wurden nach Herstellerangaben mit DMSO (Dimethylsulfoxid) in Lösung gebracht und im Anschluss mit Aqua destillata weiter verdünnt, bis die gewünschten Ziel-Konzentrationen erreicht wurden. Durch die weitere Verdünnung mit Aqua konnte sichergestellt werden, dass die DMSO-Konzentration final $< 0,3 \text{ Vol}\%$ und damit unterhalb der Zelltoxizitätsgrenze liegt. Auf diese Weise wurde ein Stock-Solution mit $0,25 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ und eine Arbeitslösung mit

Material und Methoden

0,0625 µg/ml des jeweiligen DOAKs erstellt (1). Im Folgenden wird der exakte Lösungsvorgang beschrieben:

10 mg Apixaban Trockensubstanz wurde in 1 ml DMSO aufgelöst und somit eine Apixaban-Lösung mit 10 mg/ml erstellt. Die Hälfte (0,5 ml) wurde beiseitegestellt. Die anderen 0,5 ml wurden für die Herstellung der Stock-Solution genutzt. Durch Zugabe von 19,5 ml Aqua destillata wurde eine Apixaban-Lösung von 0,25 µg/µl erzeugt (1). An dieser Stelle erfolgte die erste Aliquotierung à 5 ml und Lagerung bei -70°C. Zur Erstellung der Arbeitslösung wurden 5 ml der Stock-Solution durch Zugabe von 15 ml Aqua destillata zu einer Apixaban-Lösung von 0,0625 µg/ml weiterverdünnt. Eine erneute Portionierung der Apixaban Lösung zu je 1 ml und Asservierung bei -70°C wurde vorgenommen. Auf diese Weise konnten die Aliquote für die jeweiligen Verdünnungsreihen genutzt und die Haltbarkeit von 6 Monaten nach Herstellerangaben garantiert werden.

3.1.2.2 Erstellung der in-vitro Verdünnungsreihe

Das abgenommene Citratblut wurde zu je 5 ml in Eppendorf-Reagenzgefäße pipettiert. Es wurden immer 2 Verdünnungen zur gleichen Zeit erstellt, 10 Minuten im Heizblock bei 37°C inkubiert und anschließend der ROTEM® delta Diagnostik zugeführt. Die folgende Tabelle beschreibt die Mischungsverhältnisse der Verdünnungsreihe durch Spiken von Apixaban beziehungsweise Edoxaban (1).

Tabelle 2: Mischungsverhältnisse für das Erstellen einer DOAK-Verdünnungsreihe.

Probe	Citratblut [µl]	DOAK-Lösung 62,5 ng/µl [µl]	Aqua destillata [µl]	DOAK- Konzentration im Blut [µg/l]
1	5000	0	40	0
2	5000	2,5	37,5	31,25
3	5000	5	35	62,5
4	5000	10	30	125
5	5000	20	20	250
6	5000	40	0	500

Material und Methoden

3.2 In-vivo Protokoll

3.2.1 Patienten

Für die in-vivo Messungen wurden Notfallpatienten, die sich über eine der Ambulanzen des LMU-Klinikums vorstellten, untersucht. Es erfolgte eine einmalige Blutentnahme im Rahmen einer klinisch notwendigen Blutentnahme.

Es sollten jeweils 25 antikoagulierte Notfallpatienten mit Einnahme verschiedener Gerinnungshemmer als auch solche ohne Einnahme eingeschlossen werden.

Die Blutabnahme umfasste die Anfertigung eines kleinen Blutbilds, plasmatische Gerinnungsteste (Quick, aPTT, Fibrinogen nach Clauss, TZ) inklusive der Anti-Xa- bzw. Anti-IIa-Aktivität, die Bestimmung von Albumin, der Glomerulären Filtrationsrate sowie der Nierenretentionsparameter Kreatinin und Harnstoff. Weiteres Citratblut wurde für die thrombelastometrische Messung mittels ROTEM® delta verwendet.

Eine Therapie mit einem Thrombozytenaggregationshemmer (z.B. ASS) führte nicht zum Ausschluss. Eine gleichzeitige Therapie mit Heparinen durfte nicht erfolgen (Unfraktionierte Heparine, niedermolekulare Heparine). Die detaillierten Patientencharakteristika finden sich in Tabelle 6.

3.2.2 Versuchsdurchführung

Das kleine Blutbild, die Standardgerinnungsteste (Quick, aPTT, Fibrinogen nach Clauss, TZ) und der Nierenretentionsvariablen sowie Albumin wurden in der hiesigen Laboratoriumsmedizin gemessen. Übriges Citratblut wurde für zehn Minuten auf dem Heizblock auf 37°C gelagert und im Anschluss für die ROTEM®-Messung verwendet. Sechs Teste wurden dabei durchgeführt: EXTEM, FIBTEM, HEPTTEM, NATEM, ECATEM und TFTEM. Die Laufzeit für die Messungen der einzelnen Testkanäle betrug mindestens 70 Minuten. Übriges Citratblut wurde in Eppendorf-Gefäße überführt und bei 2000 G für 30 Minuten zentrifugiert. Das Citratplasma (500 - 800 µl) wurde durch Abpipettieren vom Zellpellet getrennt und in einem weiteren Eppendorf-Gefäß bei -80°C tiefgekühlt asserviert.

3.3 Viskoelastometrie

Die Thrombelastographie wurde von Herrn Hellmut Hartert während des zweiten Weltkriegs in Heidelberg entwickelt (56, 57). Im Jahr 1951 beschreibt dieser die Thrombelastographie als Methode zur physikalischen Analyse der Blutgerinnung (58). Das zum damaligen Zeitpunkt neue Untersuchungsverfahren von Blutgerinnungsprozessen aus Vollblut hat dann erst über 25 Jahre später in den USA

Material und Methoden

Einzug in die Klinik gefunden – zunächst im Rahmen von Lebertransplantationen, im Verlauf auch bei kardialen Operationen (56, 57). Bis zum heutigen Tag hat sich das Messverfahren weiterentwickelt und in der klinischen Versorgung der Patienten etabliert (42, 43, 44).

Das ROTEM®-Messprinzip wurde 1995-1997 in München, Deutschland, entwickelt (59). Citratblut wird hierbei auf 37°C inkubiert und in eine Messcuvette (Cup) gegeben. Beim Starten der Messung bewegt sich der sogenannte Pin in dem Cup durch oszillierende Bewegungen um 4,75°. Das Verfahren basiert auf Veränderung der Viskoelastizität von gerinnendem Blut, das direkten Einfluss auf die Bewegung des Pins zur Folge hat. Die Oszillationsbewegung gegen den erhöhten Widerstand der Blutprobe durch Fortschreiten des Gerinnungsprozesses wird detektiert und schließlich vom PC graphisch gegen die Zeit aufgetragen (siehe Abbildung 3) (59, 60, 61). Das ROTEM®-Messprinzip unterscheidet sich vom ursprünglichen Verfahren, indem die Bewegung vom Pin an Stelle vom Cup ausgeht (60).

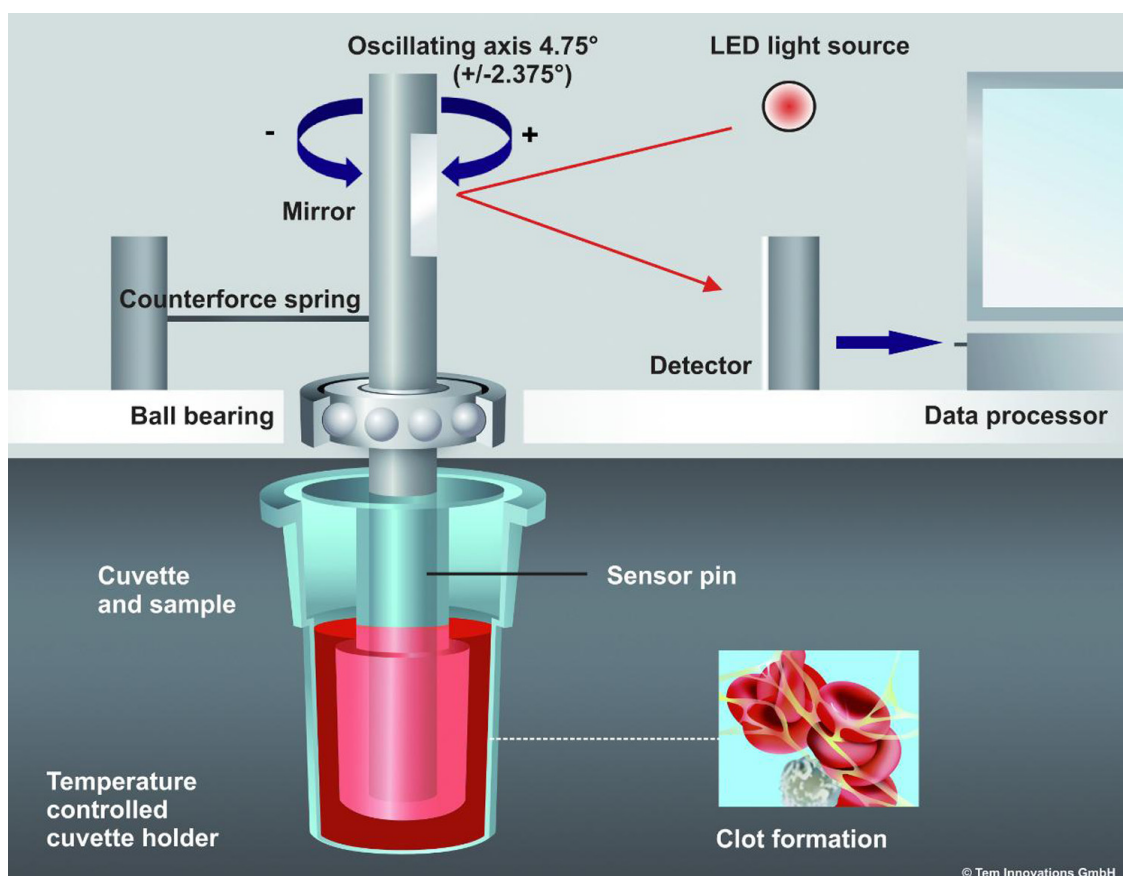


Abbildung 3: Funktionsprinzip ROTEM® (Copyright Tem Innovations GmbH, entnommen aus (62)). Mit freundlicher Genehmigung von Tem Innovations GmbH.

Material und Methoden

Abbildung 3 veranschaulicht das Funktionsprinzip des ROTEM®. Die Standardparameter der Messung – wie in Abbildung 4 zu sehen – sollen im Folgenden kurz erklärt werden (63).

- Clotting Time (CT): Gerinnungszeit in Sekunden. Start vom Start des Tests bis zum Erreichen einer 2 mm Amplitude des Gerinnsels.
- Clotting Formation Time (CFT): Gerinnselbildungszeit in Sekunden. Zeit zwischen der 2 mm Amplitude und der 20 mm Amplitude.
- Alpha-Winkel (α): Winkel zwischen der Mittellinie des Graphen und der Tangenten an der Gerinnungskurve bei einer Amplitude von 2 mm.
- Maximale Gerinnselfestigkeit (MCF): Maximal erreichte Amplitude in mm.
- $A(x)$: Amplitude in mm nach einer bestimmten Zeit x nach CT. $x = 5 \text{ min}, 10 \text{ min}, 15 \text{ min}, \dots$
- Lyse Index (LI) (x): Verhältnis der Amplitude zur MCF zum Zeitpunkt x nach CT.
- Maximale Lyse (ML): Grad der Fibrinolyse im Verhältnis zur MCF.
- Lysis Onset Time (LOT): Zeit in Sekunden nach CT bis zu einer Verringerung der Amplitude um 15% (relativ zur MCF).

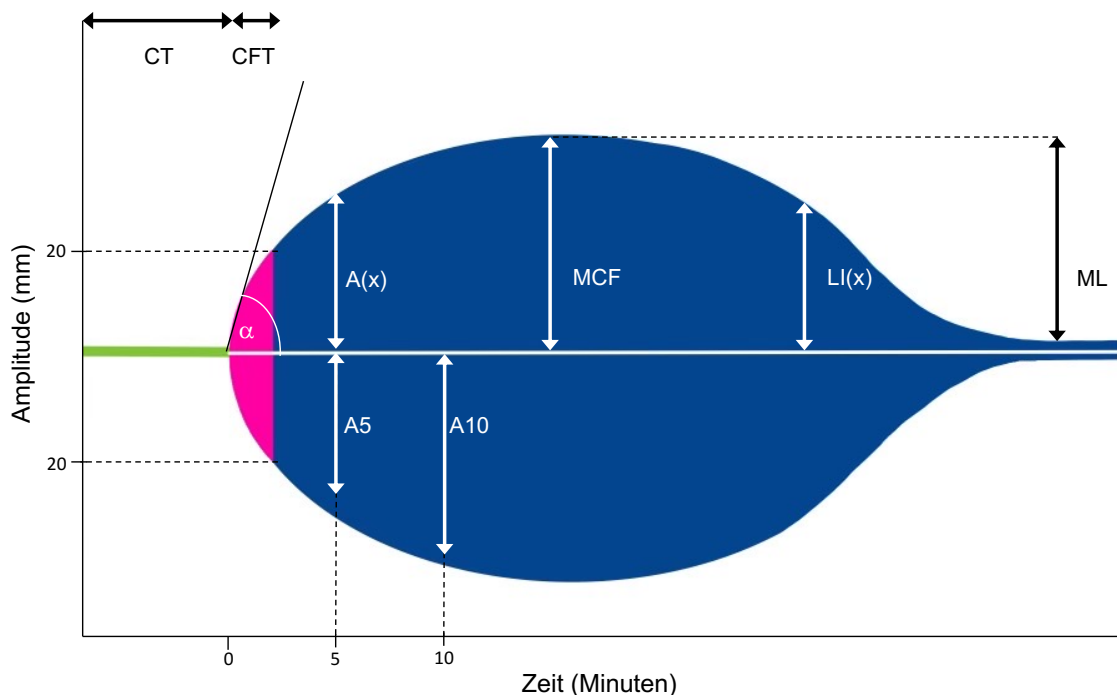


Abbildung 4: Standardparameter des Thrombelastogramms. CT: Clotting Time; CFT: Clotting Formation Time; $A(x)$: Amplitude in mm nach einer bestimmten Zeit x nach CT; MCF: Maximum Clot Firmness; LI(x): Lyse Index als Verhältnis der Amplitude zur MCF zum Zeitpunkt x nach CT; ML: Maximale Lyse; α -Winkel: Winkel zwischen der Mittellinie des Graphen und der Tangenten an der Gerinnungskurve bei einer Amplitude von 2 mm. Modifiziert und in Anlehnung an Herstellerangaben (63).

Material und Methoden

3.3.1 ROTEM® delta Testverfahren

Das Messinstrument besteht aus einem integrierten Computer, zeitgleich verwendbaren vier Testkanälen und einer elektrischen Pipette für eine interaktive Anleitung (59).

Verschiedene Systemreagenzien, die im Folgenden vorgestellt werden, ermöglichen eine differenzierte Aussage bezüglich des Gerinnungsstatus eines Patienten. Es handelt sich ausschließlich um Reagenzien zur in-vitro Diagnostik. Für die Messanalyse wird eine definierte Menge Citratblut verwendet, welches mittels eLine-Pipette Cups zugefügt wird. Im Anschluss wird durch Zugabe von Testreagenz der Gerinnungsprozess zu unterschiedlichen Bedingungen aktiviert und vom ROTEM® delta (Tem Innovations GmbH, München, Deutschland) graphisch gegen die Zeit dargestellt. Die Testreagenzien werden bei Nichtgebrauch kühl (2-8°C) gelagert. Vor der Verwendung zur Analyse müssen sie auf Raumtemperatur gebracht werden (circa 15 min). Die Haltbarkeit geöffneter Substanzen variiert von 8 Tagen (star-tem®, in-tem®, ex-tem® bis zu 14 Tagen (fib-tem®) bzw. 30 Tagen (hep-tem®). Wartungen und Qualitätschecks mittels ROTROL N/P wurden nach Vorgaben durchgeführt.

Im Folgenden werden die verwendeten Teste nach Herstellerangaben (Tem International GmbH) erläutert (63):

Der EXTEM-Test dient der Untersuchung des extrinsischen Gerinnungssystems durch Aktivierung der Gerinnung durch Gewebsthromboplastin (Tissue Faktor). Der Test ermöglicht eine Aussage über die Gerinnselbildung, Fibrinpolymerisation und Fibrinolyse über den extrinsischen Weg und erfasst die Faktoren VII, X, V, II, I sowie Thrombozyten und Fibrinolyse. Für den Test wird eine definierte Menge Citratblut zunächst mittels star-tem® Reagenz rekalkifiziert und die Gerinnung mittels r ex-tem® Reagenz aktiviert.

Mit dem FIBTEM-Test wird das extrinsische Gerinnungssystem ebenso wie beim EXTEM durch Gewebsthromboplastin durch r ex-tem® Reagenz aktiviert. Das fib-tem® Reagenz enthält ein Rekalkifizierungsreagenz sowie Cytochlasin D. Durch letzteres werden die Thrombozyten gehemmt und die Gerinnselbildung in der Folge hängt ausschließlich von der Fibrinbildung und -polymerisation ab.

Der HEPTEM-Test dient der Beurteilung des intrinsischen Wegs der Gerinnungskaskade. Die Aktivierung der Gerinnung erfolgt durch die Kontaktphase. Es werden zwei Testreagenzien verwendet: In-tem® Reagenz aktiviert das intrinsische Gerinnungssystem. Hep-tem® enthält ein Rekalkifizierungsreagenz und Heprainase, welche vorhandenes Heparin abbaut. So kann die Blutgerinnung bei heparinisierten Patienten ohne den Effekt von Heparin untersucht werden. HEPTEM ermöglicht eine

Material und Methoden

Beurteilung von Faktoren XII, XI, IX, VIII, X, V, II, I sowie Fibrin, Thrombozyten und Fibrinolyse. Für die Messung wurde lyophilisiertes Reagenz, das mit 200 µl Diluent gelöst wurde, verwendet.

Beim NATEM handelt es sich um einen Test bei der zur Citratblutprobe lediglich star-tem® zur Rekalzifizierung und kein Reagenz als Gerinnungsaktivator zugegeben wird.

Das ECATEM ist ein modifizierter thrombelastometrischer Test, der der Detektion direkter Thrombininhibitoren dient (64). Eca-tem® enthält Ecarin, das Gift der gemeinen Sandrasselotter (*Echis carinatus*) (65). Ecarin katalysiert Prothrombin zu Meizothrombin noch vor der Gerinnungsbildung. Meizothrombin konvertiert (spaltet) Fibrinogen zu Fibrin. Dabei ist dessen Enzym-Aktivität geringer als die von Thrombin (maximal 10% bei Äquimolarität) und unbeeinflusst von Heparin (34, 64, 65). Direkte Thrombininhibitoren wie z.B. Dabigatran, hemmen die Aktivität von Thrombin oder Meizothrombin. Die Aktivierung der Gerinnung und Clot-Bildung hängt vom freien (nicht inhibierten) Meizothrombin-Anteil im Blut ab. Erniedrigte Fibrinogen- oder Prothrombinspiegel können Fehlmessungen (falsch verlängerte Clotting Time, unproportional zu DTI Konzentration) verursachen (34, 65).

Wie beim ECATEM handelt es sich beim TFTEM um einen modifizierten Test: Das TFTEM ist ein Low-Tissue-Faktor Test und tf-tem® enthält nur circa 10% Tissue Faktor im Vergleich zum ex-tem® Reagenz. Dies macht den Test sensitiver für Veränderungen der Thrombingeneration im Vergleich zum EXTEM. Effekte auf die Gerinnung durch DOAKs, VKAs oder Hämophilie können so messbare Veränderungen in der Clot-Bildung bewirken (28, 46, 66, 67).

3.4 Testverfahren Institut für Laboratoriumsmedizin der LMU

Folgende Laborparameter wurden in der Laboratoriumsmedizin bestimmt. Eine detaillierte Übersicht der Messinstrumente und -verfahren sind im Anhang (Tabelle 12) zu finden (32).

- Variablen des kleinen Blutbildes: Leukozyten, Erythrozyten, Hämoglobin, Hämatokrit, MCV, MCH, MCHC, Thrombozyten, Normoblasten (XN 1000 (Sysmex)/ XN 9000 (Sysmex)).
- Serologie: Kreatinin (Jaffé), GFR (CKD-EPI), Albumin (Cobas 8000/ c702 (Roche))

Material und Methoden

- Gerinnungsvariablen (aus Citratblut): Quick-Wert, INR, aPTT (LA-sensitiv), Fibrinogen (Clauss), Thrombinzeit, Anti-Xa-Aktivität (Apixaban/ Edoxaban/ Rivaroxaban), Anti-IIa-Aktivität (Dabigatran) (Atellica COAG 360)

Die Bestimmung der Anti-Xa-Aktivität beziehungsweise Anti-IIa-Aktivität basiert auf chromogen Messprinzipien. Quick-Wert, INR, aPTT und Fibrinogen ergeben sich durch Verfahren der optischen Koagulometrie.

3.5 Statistische Analyse

Die Auswertung erfolgt mit Hilfe von GraphPad Prism 9 (GraphPad Software, Inc., San Diego, USA). Die Daten werden als Median mit (Q1/Q3) angegeben.

Die Auswertung der in-vitro Dosis-Wirkungskurven von Apixaban bzw. Edoxaban erfolgte mittels 2-Wege-Anova. (Multiple Comparison Test: Tukey).

Eine mögliche Korrelation zwischen Anti-Xa-Aktivität und Clotting Time der thrombelastometrischen Teste wurde mittels Spearman-Test untersucht. Angegeben werden die Korrelationskoeffizienten, das Konfidenzintervall und der p-Wert.

Eine Auswertung der verschiedenen thrombelastometrischen Teste und deren Beeinflussung durch die verschiedenen Koagulopathien wurde mittels Kruskal-Wallis-Testung und Dunn's Multiple Comparison Test untersucht.

Es erfolgte die Zusammenfassung der einzelnen Anti-Xa-Inhibitoren (Rivaroxaban, Apixaban und Edoxaban) als Gruppe Faktor-Xa-Inhibitoren.

Anschließend erfolgte die Überprüfung des Algorithmus zur Detektion von (D)OAKS (47). Ziel war es die richtige Zuordnung der einzelnen Koagulopathien anhand dieses Algorithmus zu testen.

Ergebnisse

4 Ergebnisse

4.1 In-Vitro

Daten des in-vitro Teils wurden bereits im Jahr 2022 veröffentlicht: (1)

4.1.1 Probandencharakteristika

In Tabelle 3 werden die erhobenen Probandencharakteristika aufgeführt.

Tabelle 3: Probandencharakteristika. Darstellung der Werte als Median (Q1/Q3) oder Anzahl (im prozentualen Verhältnis).

	Apixaban (n = 10)	Edoxaban (n = 10)
Alter [Jahre]	30 (24/34)	31 (27/33)
Geschlecht [m/w]	5/5 (50/50%)	5/5 (50/50%)
BMI [kg x m²]	23.3 (21.9/26.3)	22.6 (21.2/23.1)
Blutdruck systol. / diastol. [mmHg]	126 (120/144) / 85 (71/93)	126 (109/131) / 79 (67/86)
Sauerstoffsättigung [%]	98 (96/99)	99 (98/99)
Vorerkrankungen [j/n]	5/5 (50/50)	4/6 (40/60)
ASA- Status [n in %]		
ASA 1	65 (50%)	65 (60%)
ASA 2	65 (50%)	65 (40%)
Medikation [j/n]	4/6 (40/60%)	4/6 (40/60%)
Hämoglobin [g/dl]	15.5 (13.7/15.9)	14.6 (14.2/15.7)
Hämatokrit [%]	0.44 (0.40/0.45)	0.42 (0.41/0.45)
Thrombozyten [10⁹/l]	248 (233/302)	247 (196/272)
INR	0.9 (0.9/1.0)	1.0 (0.9/1.0)
Quick [%]	112 (108/117)	107 (102/114)
aPTT [s]	26 (24/26)	25 (25/26)
Thrombinzeit [s]	17 (17/18)	18 (18/18)
Fibrinogen (Clauss) [mg/dl]	291 (268/346)	237 (220/270)
Kreatinin (Jaffé) [mg/dl]	0.85 (0.7/1.0)	0.8 (0.8/0.9)
GFR (CKD-EPI) [ml/min]	108 (90/121)	111 (96/118)

Vorliegende Erkrankungen: n = 5 Hypothyreose; n = 1 Asthma bronchiale; n = 1 Chronische Sinusitis; n = 1 Multiple Sklerose; n = 1 Arterieller Hypertonus; n = 1 Aortenstenose; Medikamente: n = 5 L-Thyroxin; n = 1 Budesonid, n = 1 Glatirameracetat; n = 1 Olmesartan; n = 1 Amlodipin; ASA (American Society of Anaesthesiology)-Klassifikation zur Abschätzung des perioperativen Risikos: ASA 1-6.

Ergebnisse

4.1.2 Dosis-Wirkungskurven

Im ersten Schritt analysierten wir den Einfluss von Apixaban beziehungsweise Edoxaban auf thrombelastometrische Standardteste (EXTEM, FIBTEM, HEPTM, NATEM).

Die Abbildungen 5 bis 11 zeigen die graphische Darstellung der Dosis-Wirkungskurven von Apixaban beziehungsweise Edoxaban. Die Tabellen 4 und 5 zeigen die Gesamtheit der thrombelastometrischen Variablen und deren Messergebnis (1).

Abbildung 5 zeigt, dass sich die CT_{EXTEM} bei Hinzufügen von Apixaban ab Konzentrationen von 125 ng/ml signifikant verlängert (0 ng/ml vs. 125 ng/ml: $p = 0,0018$; 0 ng/ml vs. 250 ng/ml: $p < 0,0001$; 0 ng/ml vs. 500 ng/ml: $p < 0,0001$).

Edoxaban verlängert die CT_{EXTEM} signifikant ab 31,25 ng/ml (für alle Konzentrationen ab 31,25 ng/ml $p < 0,0001$).

Die CT_{EXTEM} zeigt signifikante Unterschiede zwischen Apixaban und Edoxaban für die Konzentrationen ab 31,25 ng/ml (31,25 ng/ml: $p = 0,0006$; 62,5 ng/ml: $p = 0,0008$; 125 ng/ml: $p = 0,0001$; 250 ng/ml: $p = 0,0004$; 500 ng/ml $p = 0,0006$) (1).

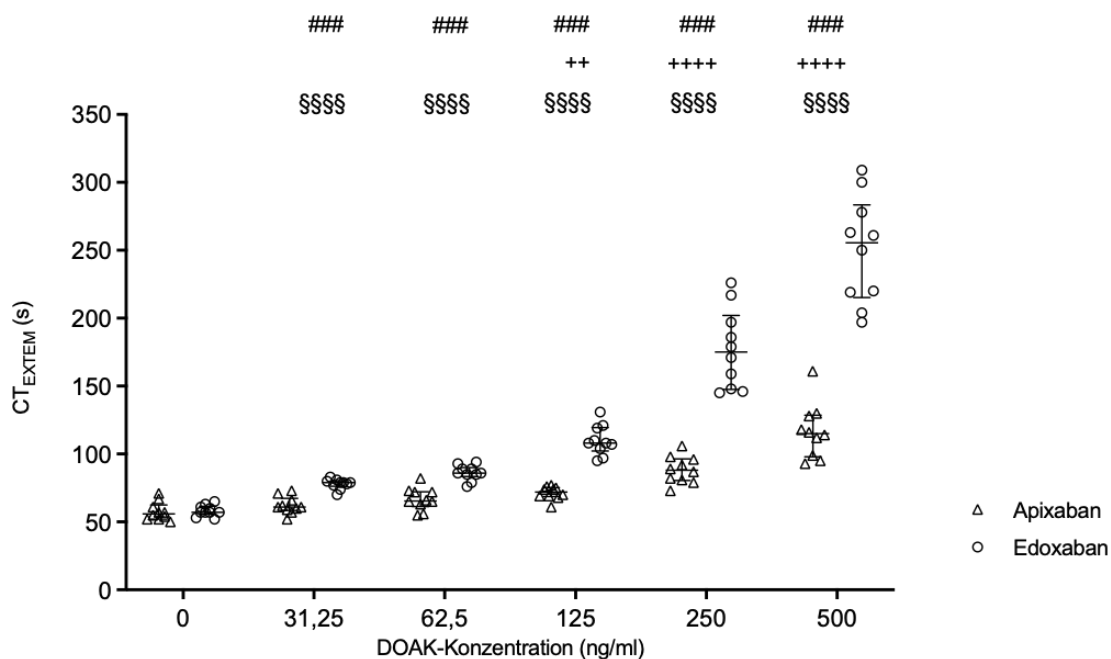


Abbildung 5: In-vitro Dosis-Wirkungskurve für die Clotting Time (CT) bei steigenden DOAK-Konzentrationen (ng/ml) von Apixaban bzw. Edoxaban für den thrombelastometrischen Test EXTEM. Darstellung der Clotting Time in Sekunden (s), Median + IQR, $n = 10$. + vs. Baseline Apixaban; § vs. Baseline Edoxaban; # zwischen den DOAKs bei entsprechender Konzentration. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$.

Ergebnisse

Die CT_{FIBTEM} zeigt analoge Veränderungen zur CT_{EXTEM} (siehe Abbildung 6): Apixaban verlängert die CT_{FIBTEM} signifikant im Konzentrationsbereich 125 ng/ml – 500 ng/ml (0 ng/ml vs. 125 ng/ml: $p = 0,0071$; 0 ng/ml vs. 250 ng/ml: $p = 0,0003$; 0 ng/ml vs. 500 ng/ml: $p = 0,0002$).

Die CT_{FIBTEM} wird durch Edoxaban ab Konzentrationen von 31,25 ng/ml signifikant verlängert (ab Konzentrationen von 31,25 ng/ml: $p < 0,0001$).

Zwischen den beiden DOAKs zeigen sich signifikante Unterschiede bei 31,25 – 500 ng/ml (31,25 ng/ml: $p = 0,0113$; 62,5 ng/ml: $p = 0,0003$; 125 ng/ml: $p = 0,0005$; 250 ng/ml: $p = 0,0005$; 500 ng/ml: $p = 0,0018$)(1).

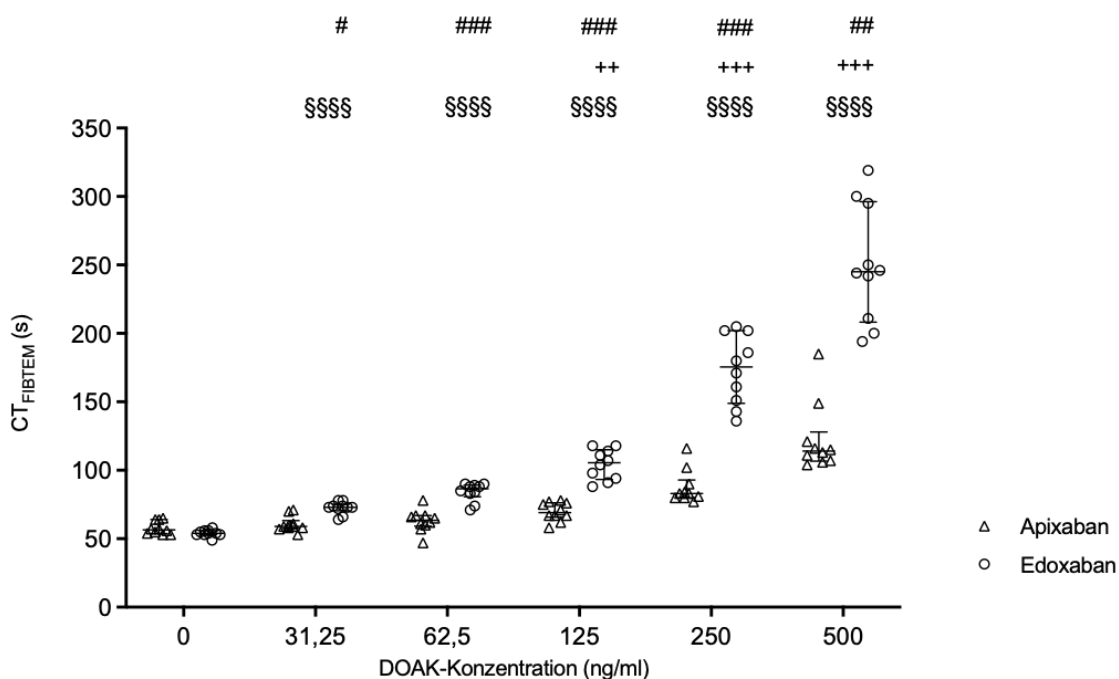


Abbildung 6: In-vitro Dosis-Wirkungskurve für die Clotting Time (CT) bei steigenden DOAK-Konzentrationen (ng/ml) von Apixaban bzw. Edoxaban für den thrombelastometrischen Test FIBTEM (1). Darstellung der Clotting Time in Sekunden (s), Median + IQR, $n = 10$. + vs. Baseline Apixaban; § vs. Baseline Edoxaban; # zwischen den DOAKs bei entsprechender Konzentration. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$. Mit der Genehmigung i. R. von Open Access; Creative Commons Attribution 4.0 International License. Abbildung modifiziert.

Ergebnisse

Abbildung 7 zeigt, dass die CT_{HEPTEM} durch Apixaban im Konzentrationsbereich 250 ng/ml und 500 ng/ml (0 ng/ml vs. 250 ng/ml: $p = 0,0327$; 0 ng/ml vs. 500 ng/ml: $p = 0,0052$) und durch Edoxaban ab Konzentrationen von 31,25 ng/ml (0 ng/ml vs. 31,25 ng/ml: $p = 0,0033$; 0 ng/ml vs. 62,5 ng/ml: $p = 0,0099$; 0 ng/ml vs. 125 ng/ml: $p = 0,0002$; 0 ng/ml vs. 250 ng/ml: $p = 0,0003$; 0 ng/ml vs. 500 ng/ml: $p < 0,0001$) signifikant verlängert wird.

Zwischen Apixaban und Edoxaban ergeben sich signifikante Unterschiede bei 250 ng/ml (250 ng/ml: $p = 0,0348$; 500 ng/ml: $p < 0,0001$) (1).

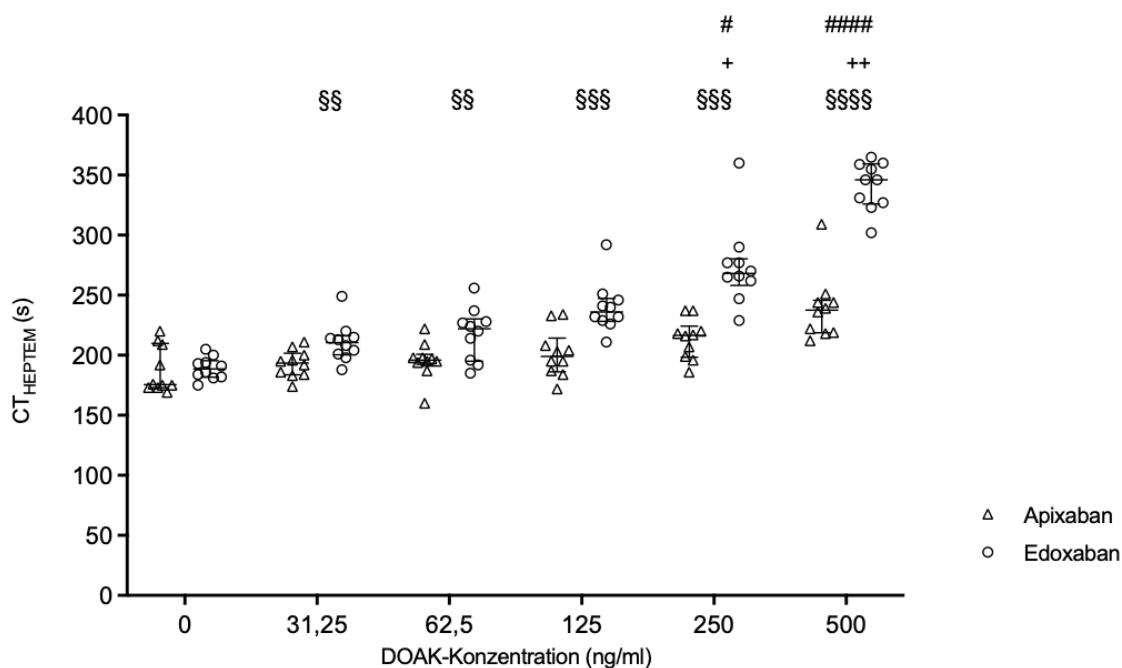


Abbildung 7: In-vitro Dosis-Wirkungskurve für die Clotting Time (CT) bei steigenden DOAK-Konzentrationen (ng/ml) von Apixaban bzw. Edoxaban für den thrombelastometrischen Test HEPTEM (1). Darstellung der Clotting Time in Sekunden (s), Median + IQR, $n = 10$. + vs. Baseline Apixaban; \S vs. Baseline Edoxaban; # zwischen den DOAKs bei entsprechender Konzentration. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$. Mit der Genehmigung i. R. von Open Access; Creative Commons Attribution 4.0 International License. Abbildung modifiziert.

Ergebnisse

Die CT_{NATEM} (Abbildung 8) verlängert sich bei Edoxaban bei Konzentrationen von 500 ng/ml signifikant (0 ng/ml vs. 500 ng/ml: $p = 0,0045$). Apixaban zeigt nur in der Konzentrationsgruppe 250 ng/ml eine signifikante Verlängerung der CT_{NATEM} ($p = 0,0253$) (1).

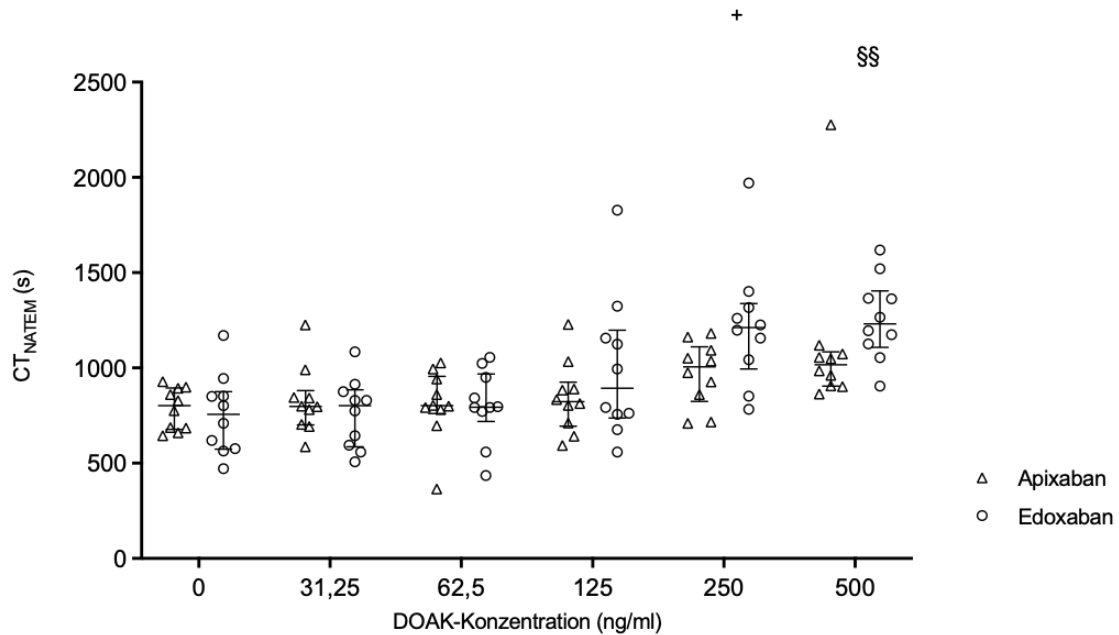


Abbildung 8: In-vitro Dosis-Wirkungskurve für die Clotting Time (CT) bei steigenden DOAK-Konzentrationen (ng/ml) von Apixaban bzw. Edoxaban für den thrombelastometrischen Test NATEM. Darstellung der Clotting Time in Sekunden (s), Median + IQR, $n=10$. + vs. Baseline Apixaban; § vs. Baseline Edoxaban; # zwischen den DOAKs bei entsprechender Konzentration. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$.

Ergebnisse

Im nächsten Schritt untersuchten wir den Einfluss von Apixaban und Edoxaban auf die modifizierten thrombelastometrischen Teste ECATEM und TFTEM.

Die CT_{ECATEM} zeigt keine signifikanten Veränderungen bei steigenden Konzentrationen der Xa-Antagonisten Apixaban und Edoxaban (siehe Abbildung 9) (1).

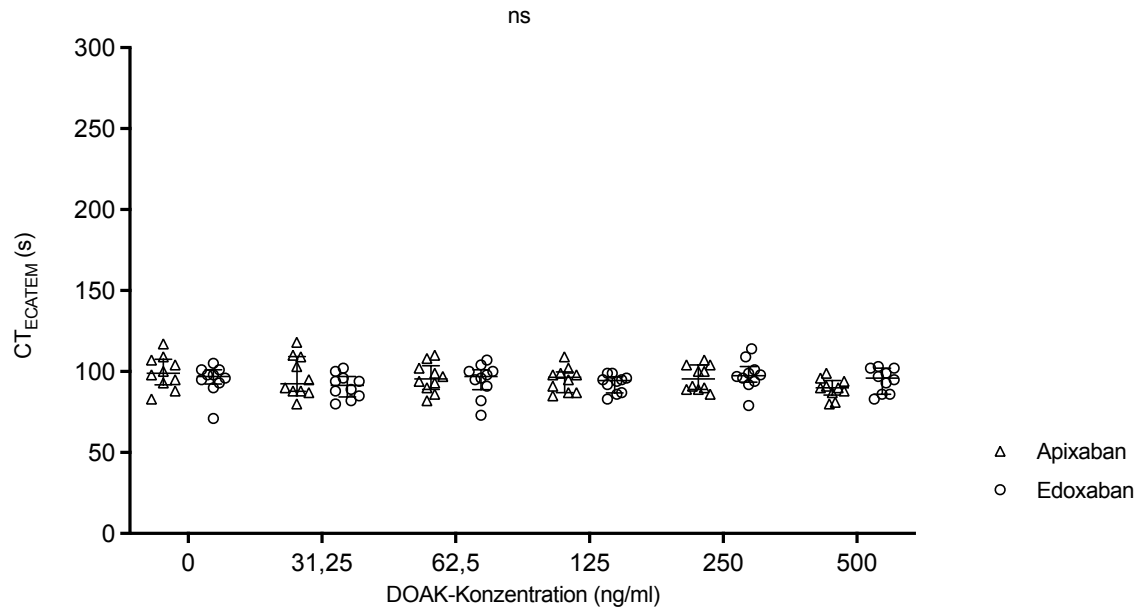


Abbildung 9: In-vitro Dosis-Wirkungskurve für die Clotting Time (CT) bei steigenden DOAK-Konzentrationen (ng/ml) von Apixaban bzw. Edoxaban für den thrombelastometrischen Test ECATEM (1). Darstellung der Clotting Time in Sekunden (s), Median + IQR, n= 10. + vs. Baseline Apixaban; § vs. Baseline Edoxaban; # zwischen den DOAKs bei entsprechender Konzentration. * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001, **** p < 0.0001. Mit der Genehmigung i. R. von Open Access; Creative Commons Attribution 4.0 International License. Abbildung modifiziert.

Ergebnisse

Die Abbildung 10 zeigt, wie sich die CT_{TFTEM} ab Konzentrationen von 125 ng/ml Apixaban (0 ng/ml vs. 125 ng/ml: $p = 0,0003$; 0 ng/ml vs. 250 ng/ml: $p < 0,0001$; 0 ng/ml vs. 500 ng/ml: $p < 0,0001$) und ab Konzentrationen von 31,25 ng/ml Edoxaban (alle Konzentrationen ab 32,25 ng/ml $p < 0,0001$) signifikant verlängert.

Zwischen Apixaban und Edoxaban zeigt sich bei 31,25 ng/ml und 500 ng/ml ein signifikanter Unterschied (Edoxaban vs. Apixaban: 31,25 ng/ml: $p = 0,0362$; 500 ng/ml: $p = 0,0423$). Dabei verlängert Edoxaban die CT_{TFTEM} bei gleicher Konzentration signifikant mehr als Apixaban (1).

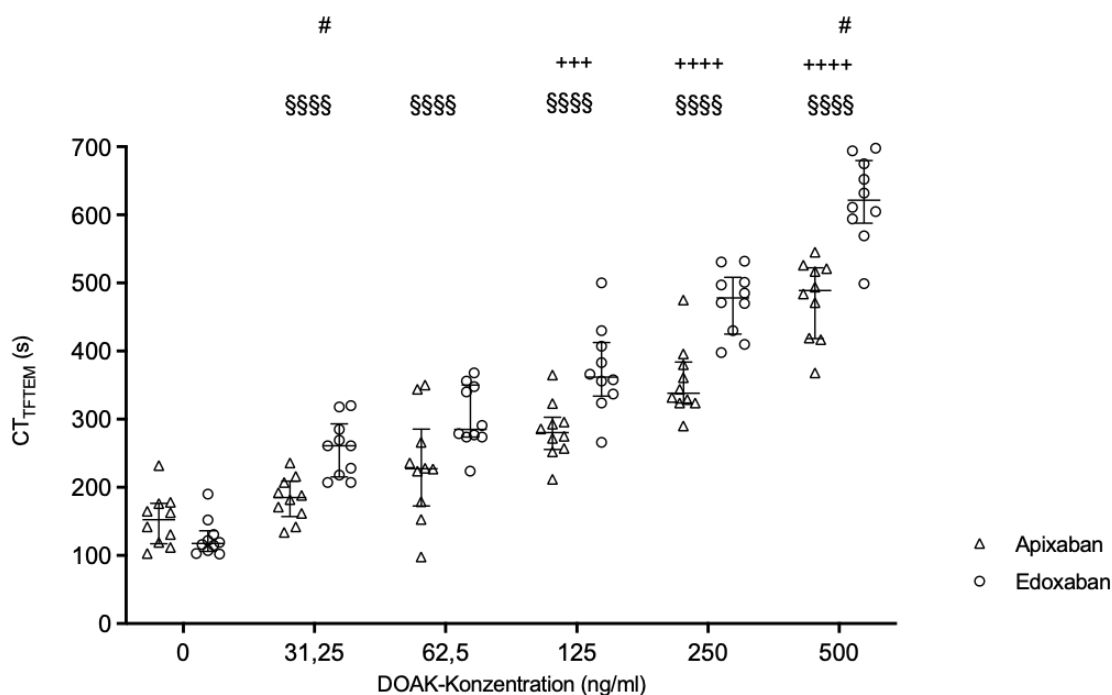


Abbildung 10: In-vitro Dosis-Wirkungskurve für die Clotting Time (CT) bei steigenden DOAK-Konzentrationen (ng/ml) von Apixaban bzw. Edoxaban für den thrombelastometrischen Test TFTEM (1). Darstellung der Clotting Time in Sekunden (s), Median + IQR, $n = 10$. + vs. Baseline Apixaban; § vs. Baseline Edoxaban; # zwischen den DOAKs bei entsprechender Konzentration. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$. Mit der Genehmigung i. R. von Open Access; Creative Commons Attribution 4.0 International License. Abbildung modifiziert.

Ergebnisse

Betrachtet man die Ratio aus der CT_{TFTEM} und CT_{ECATEM} (Abbildung 11) ergibt sich für Apixaban ein signifikanter Anstieg ab DOAK-Konzentrationen von 125 ng/ml (0 ng/ml vs. 125 ng/ml: $p = 0,0008$; vs. 250 ng/ml: $p = 0,0002$; vs. 500 ng/ml $p < 0,0001$), für Edoxaban ab Konzentrationen von 31,25 ng/ml: $p < 0,0001$). DOAK-Konzentrationen bei 31,25 ng/ml und 125 ng/ml ergeben für die Ratio CT_{TFTEM}/CT_{ECATEM} signifikante Unterschiede zwischen Apixaban und Edoxaban (32,25 ng/ml: $p = 0,0208$; 125 ng/ml: $p = 0,286$) (1).

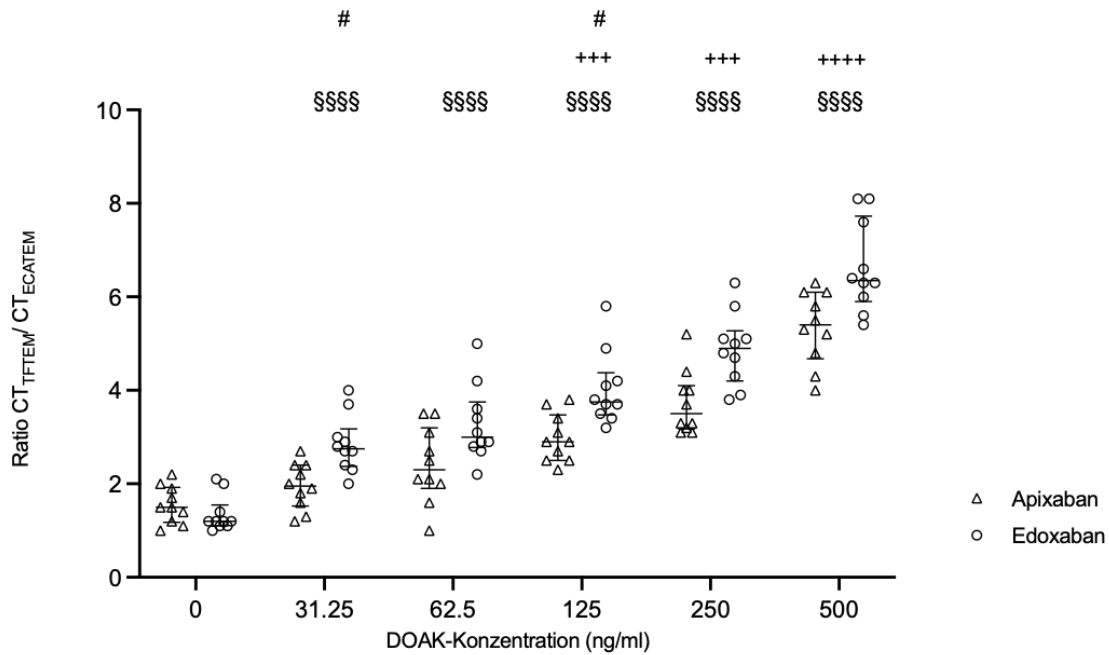


Abbildung 11: In-vitro Dosis-Wirkungskurve für die Ratio aus CT_{TFTEM} und CT_{ECATEM} bei steigenden DOAK-Konzentrationen (ng/ml) von Apixaban bzw. Edoxaban. Darstellung als Median + IQR, $n = 10$. + vs. Baseline Apixaban; § vs. Baseline Edoxaban; # zwischen den DOAKs bei entsprechender Konzentration. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$.

Ergebnisse

Tabelle 4: Thrombelastometrische Variablen der Dosis-Wirkungskurven für Apixaban. Angabe der Werte als Median (Q1/Q3) (1).

Apixaban	0 ng/ml	31,25 ng/ml	62,5 ng/ml	125 ng/ml	250 ng/ml	500 ng/ml
CT _{EXTEM} [s]	56 (52/63)	61 (59/67)	66 (61/72)	72 ** (69/75)	88 **** (81/97)	115 **** (98/129)
CT _{FIBTEM} [s]	57 (54/64)	59 (58/63)	64 (59/67)	69 ** (66/76)	83 *** (80/93)	114 *** (107/128)
CT _{HEPTEM} [s]	176 (173/210)	194 (184/202)	196 (192/201)	199 (186/214)	217 * (198/224)	238 ** (219/246)
CT _{NATEM} [s]	802 (678/895)	799 (701/882)	802 (761/955)	824 (694/925)	1006 * (824/1110)	1017 (905/1085)
CT _{ECATEM} [s]	99 (92/108)	93 (88/109)	96 (89/104)	97 (87/100)	96 (89/104)	90 (86/95)
CT _{TFTEM} [s]	153 (117/177)	185 (157/209)	228 (173/286)	281 *** (256/303)	338 **** (324/384)	489 **** (419/522)
CFT _{EXTEM} [s]	75 (67/82)	77 (65/81)	69 (62/78)	68 (59/74)	68 (61/73)	62 (56/73)
CFT _{FIBTEM} [s]	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/0)
CFT _{HEPTEM} [s]	83 (65/88)	83 (67/86)	75,5 (64/78)	76 (64/89)	70 (62/82)	77 (70/86)
CFT _{NATEM} [s]	287 (226/313)	312 (273/333)	260 (233/318)	311 (259/401)	318 (247/434)	325 (292/456)
CFT _{ECATEM} [s]	76 (69/83)	80 (74/83)	78 (71/82)	73 (69/85)	78 (73/83)	74 (69/80)
CFT _{TFTEM} [s]	92 (82/125)	106 (84/117)	114 (88/150)	105 (95/186)	139 ** (124/179)	186 *** (157/195)
A5 _{EXTEM} [mm]	47 (42/51)	47 (45/49)	49 (44/51)	49 (47/53)	48 (46/51)	50 (47/52)
A5 _{FIBTEM} [mm]	13 (12/14)	13 (11/16)	12 (11/13)	12 (11/13)	13 (12/17)	11 * (9/12)
A5 _{HEPTEM} [mm]	43 (41/49)	43 (41/47)	45 (43/47)	44 (39/48)	45 (42/49)	45 (40/47)
A5 _{NATEM} [mm]	21 (19/26)	19 (18/22)	24 (19/26)	20 (14/24)	19 (12/24)	19 (12/21)
A5 _{ECATEM} [mm]	47 (46/52)	49 (46/51)	49 (46/51)	50 (47/52)	48 (45/51)	50 (47/53)
A5 _{TFTEM} [mm]	44 (38/48)	43 (40/46)	42 (34/45)	40 (31/43)	37 * (31/39)	32 *** (30/35)
A10 _{EXTEM} [mm]	56 (52/60)	57 (55/59)	58 (54/60)	58 (56/61)	59 (55/60)	58 (56/61)
A10 _{FIBTEM} [mm]	14 (12/14)	14 (12/17)	13 (12/14)	13 (12/14)	14 (12/18)	12 * (11/13)
A10 _{HEPTEM} [mm]	53 (52/57)	53 (51/57)	56 (52/57)	54 (50/58)	55 (52/58)	54 (50/57)
A10 _{NATEM} [mm]	37 (35/41)	35 (33/40)	39 (36/42)	35 (31/39)	35 (30/39)	36 (27/38)
A10 _{ECATEM} [mm]	58 (56/62)	59 (57/61)	59 (57/61)	60 (58/62)	59 (56/61)	60 (57/63)
A10 _{TFTEM} [mm]	56 (51/61)	56 (52/58)	54 (50/57)	52 (47/55)	50 * (46/53)	47 **** (45/49)
MCF _{EXTEM} [mm]	63 (60/67)	63 (62/65)	64 (61/67)	64 (63/68)	66 (62/66)	64 (63/68)
MCF _{FIBTEM} [mm]	14 (13/17)	14 (13/17)	14 (13/15)	15 (12/15)	15 (12/19)	13 (11/14)
MCF _{HEPTEM} [mm]	59 (56/61)	59 (56/63)	61 (58/63)	60 (56/64)	60 (57/62)	60 (57/63)
MCF _{NATEM} [mm]	52 (50/54)	51 (48/53)	52 (50/57)	52 (47/56)	51 (49/55)	52 (50/54)
MCF _{ECATEM} [mm]	65 (62/69)	66 (64/68)	66 (65/69)	68 (65/71)	67 (64/69)	68 (66/71)
MCF _{TFTEM} [mm]	64 (60/69)	63 (61/67)	64 (61/66)	63 (59/64)	59,5 (57/62)	57 *** (55/61)

CFT: Clotting Formation Time; A5: Amplitude in mm nach 5 Minuten; A10: Amplitude in mm nach 10 min; MCF: Maximum Clot Firmness; * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001, **** p < 0.0001 vs. baseline.

Ergebnisse

Tabelle 5: Thrombelastometrische Variablen der Dosis-Wirkungskurven für Edoxaban. Angabe der Werte als Median (Q1/Q3) (1).

	0 ng/ml	31,25 ng/ml	62,5 ng/ml	125 ng/ml	250 ng/ml	500 ng/ml
CT _{EXTEM} [s]	57 (56/62)	79 **** (76/80)	86 **** (84/90)	108 **** (102/120)	175 **** (148/202)	256 **** (215/284)
CT _{FIBTEM} [s]	54 (53/56)	73 **** (71/75)	87 **** (81/89)	106 **** (93/115)	176 **** (149/202)	245 **** (208/296)
CT _{HEPTEM} [s]	189 (182/196)	211 ** (200/216)	222 ** (195/230)	236 *** (228/247)	268 *** (258/280)	346 **** (236/359)
CT _{NATEM} [s]	756 (574/875)	802 (586/886)	795 (719/969)	894 (737/1199)	1212 (995/1338)	1231 ** (1108/1405)
CT _{ECATEM} [s]	97 (92/101)	92 (84/97)	97 (89/101)	95 (87/97)	98 (94/103)	96 (86/102)
CT _{TFTEM} [s]	118 (106/136)	261 **** (215/293)	285 **** (274/350)	362 **** (334/413)	478 **** (425/509)	622 **** (588/680)
CFT _{EXTEM} [s]	86 (68/101)	77 (68/90)	72 * (62/83)	67 * (59/81)	66 (59/81)	77 (62/86)
CFT _{FIBTEM} [s]	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/0)
CFT _{HEPTEM} [s]	73 (62/82)	84 **** (69/90)	73 (61/84)	85 ** (68/92)	78 (69/83)	95 *** (84/100)
CFT _{NATEM} [s]	300 (194/353)	326 (183/413)	290 (189/405)	332 (181/415)	360 (227/420)	411 * (342/492)
CFT _{ECATEM} [s]	84 (74/96)	82 (70/92)	84 (74/96)	84 (70/97)	87 (75/97)	84 (73/88)
CFT _{TFTEM} [s]	96 (84/127)	110 (97/153)	113 (99/143)	127 (106/146)	145 * (125/193)	189 *** (159/223)
A5 _{EXTEM} [mm]	43 (39/48)	44 (41/46)	45 (43/49)	47 * (43/50)	47 (44/50)	47 (43/48)
A5 _{FIBTEM} [mm]	11 (10/12)	10 (8/11)	9 (8/11)	9 (8/11)	9 * (7/10)	8 ** (8/9)
A5 _{HEPTEM} [mm]	44 (41/47)	41 **** (40/45)	45 (43/48)	42 * (38/46)	43 (41/45)	40 ** (39/43)
A5 _{NATEM} [mm]	20 (17/30)	19 (14/32)	21 (14/31)	18 (14/31)	16 (13/27)	14 * (13/17)
A5 _{ECATEM} [mm]	44 (42/49)	46 * (43/50)	44 (41/47)	45 (42/51)	44 (40/47)	46 (44/50)
A5 _{TFTEM} [mm]	43 (38/45)	39 (33/42)	40 (35/43)	39 (35/41)	34 ** (29/39)	30 *** (26/34)
A10 _{EXTEM} [mm]	53 (49/57)	53 (51/55)	55 (52/58)	56 (52/58)	56 * (54/59)	56 (53/57)
A10 _{FIBTEM} [mm]	12 (11/13)	11 * (9/12)	10 * (9/12)	10 (9/11)	10 ** (8/11)	9 ** (8/10)
A10 _{HEPTEM} [mm]	54 (51/56)	51 ** (49/55)	55 (52/57)	52 * (48/54)	53 (51/55)	50 ** (49/53)
A10 _{NATEM} [mm]	35 (33/45)	33 (29/46)	35 (30/45)	34 (29/45)	32 (29/44)	29 * (25/35)
A10 _{ECATEM} [mm]	55 (52/59)	57 (54/60)	55 (52/57)	56 (52/62)	55 (51/58)	56 (54/60)
A10 _{TFTEM} [mm]	55 (52/56)	51 (47/55)	52 (49/55)	51 (48/52)	47 ** (44/52)	44 **** (40/48)
MCF _{EXTEM} [mm]	61 (58/63)	61 (59/62)	62 (59/64)	63 (59/65)	62 (60/65)	62 (59/64)
MCF _{FIBTEM} [mm]	12 (11/13)	11 (9/13)	11 (10/12)	11 (9/12)	11 (9/12)	10 *** (9/11)
MCF _{HEPTEM} [mm]	59 (57/61)	57 (56/59)	60 (58/62)	59 (55/60)	58 (58/60)	58 (56/59)
MCF _{NATEM} [mm]	51 (49/56)	49 (47/57)	51 (47/56)	50 (44/55)	48 (46/54)	46 * (45/53)
MCF _{ECATEM} [mm]	63 (60/66)	65 (63/67)	64 (62/65)	65 ** (61/68)	64 (61/65)	66 * (63/67)
MCF _{TFTEM} [mm]	63 (61/64)	61 (59/64)	63 (59/65)	60 (58/63)	58 ** (55/60)	54 *** (49/57)

CFT: Clotting Formation Time; A5: Amplitude in mm nach 5 Minuten; A10: Amplitude in mm nach 10 min; MCF: Maximum Clot Firmness; * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001, **** p < 0.0001 vs. baseline.

Ergebnisse

4.1.3 Korrelation CT mit Anti-Xa-Aktivität

Die Anti-Xa-Aktivität für Apixaban (gemessenes Minimum < 2 ng/ml; gemessenes Maximum > 497 ng/ml) korreliert sehr gut mit der CT_{TFTEM} ($r = 0,9085$; 95%-CI: 0,8488 – 0,9454; $p < 0,0001$), mit der CT_{EXTEM} ($r = 0,8990$; 95%-CI: 0,8335 – 0,9395; $p < 0,0001$), mit der CT_{FIBTEM} ($r = 0,8742$; 95%-CI: 0,7944 – 0,9243; $p < 0,0001$). Die Korrelation besteht weniger stark auch mit der CT_{HEPTEM} ($r = 0,6409$; 95%-CI: 0,4561 – 0,7727; $p < 0,0001$) und der CT_{NATEM} ($r = 0,5035$; 95%-CI: 0,2791 -0,6757; $p < 0,0001$). Die CT_{ECATEM} korreliert nicht mit der Anti-Xa-Aktivität für Apixaban ($r = -0,2100$; $p = 0,1073$) (1).

Die Anti-Xa-Aktivität für Edoxaban (gemessenes Minimum < 2 ng/ml; gemessenes Maximum 332 ng/ml) korreliert sehr gut mit der CT_{EXTEM} ($r = 0,9740$; 95%-CI: 0,9560 – 0,9847; $p < 0,001$), der CT_{FIBTEM} ($r = 0,9699$; 95%-CI: 0,9491 – 0,9822; $p < 0,001$), der CT_{HEPTEM} ($r = 0,9060$; 95%-CI: 0,8447 – 0,9438; $p < 0,001$), der CT_{TFTEM} ($r = 0,9415$; 95%-CI: 0,9022 – 0,9653; $p < 0,001$) und der CT_{NATEM} ($r = 0,6581$; 95%-CI: 0,4793 – 0,7844; $p < 0,001$). Die CT_{ECATEM} korreliert nicht mit der Anti-Xa-Aktivität für Edoxaban ($r = 0,0704$; $p = 0,593$) (1).

Wir konnten im ersten Teil somit zeigen, dass standardthrombelastometrische Teste die beiden DOAKs Apixaban und Edoxaban nur ungenügend detektieren. Insbesondere bei Apixaban wird die CT erst bei hohen Konzentrationen über den Normbereich hinaus verlängert. Anzumerken ist zudem, dass Apixaban im Vergleich zu Edoxaban eine geringere Veränderung der CT bewirkt.

Der modifizierte thrombelastometrische Test TFTEM detektiert beide Substanzen hingegen sensitiver als die Standardteste. Obwohl auch hier die CT bei Apixaban erst bei einer Konzentration von 125 ng/ml signifikant verlängert wird, kommt es hier zu einer ausgeprägteren Verlängerung im Vergleich zur Basismessung. Wie erwartet ist der ecarinbasierte Test ECATEM insensitiv gegenüber Xa-Antagonisten.

Im nächsten Schritt haben wir analysiert, wie sich zuvor genannte Teste bei Patienten unter DOAK-Einnahme verhalten.

Ergebnisse

4.2 In-Vivo

4.2.1 Patientencharakteristika

Insgesamt wurden 144 Patienten in den in-vivo Teil der Studie eingeschlossen. Aufgrund der deutlich zurückgehenden Verschreibungshäufigkeit von Dabigatran konnten hier im geplanten Zeitraum keine 25 Patienten eingeschlossen werden.

Bei 20 Patienten wurde eine blutverdünnende (D)OAK-Therapie durch ASS ergänzt. Ein Patient nahm zu der bestehenden VKA-Therapie Clopidogrel ein. Eine Probe in der Dabigatran- Subgruppe ergab eine Tripple Therapie mit DOAK, ASS und Clopidogrel. 9 Patienten der Gruppe ohne Einnahme von OAK nahmen zum Zeitpunkt der Studienteilnahme ASS ein.

Tabelle 6 zeigt die Charakteristika ergebend aus der Anamnese der eingeschlossenen Patienten.

Tabelle 6: Patientencharakteristika. Darstellung der Werte als Median (Q1/Q3) oder Anzahl (im prozentualen Verhältnis).

	Apixaban (n = 25)	Edoxaban (n = 25)	Rivaroxaban (n = 25)	Dabigatran (n = 19)	Marcumar (n = 25)	Kontrolle (n = 25)
Alter [Jahre]	79 (71/82)	76 (68/80)	79 (75/82)	82 (77/85)	66 (54/80)	68 (54/76)
Geschlecht [m/w] [in %]	10/15 (40/60)	14/11 (56/44)	15/10 (60/40)	12/7 (63/37)	18/7 (72/28)	15/10 (60/40)
BMI [kg x m²]	25,5 (22,0-28,3)	25,9 (24,7-29,0)	27,8 (24,0-29,4)	25,5 (22,3-26,9)	26,0 (22,1-29,4)	26,0 (23,0-29,7)
Vorerkrankungen [n in %]						
Arterieller Hypertonus	17 (68)	20 (80)	19 (76)	17 (89)	12 (48)	11 (44)
Thrombosen und Embolien (LAE, TVT)	5 (20)	2 (8)	5 (20)	2 (11)	7 (28)	1 (4)
Koronare Herzerkrankung	6 (24)	7 (28)	13 (52)	10 (53)	12 (48)	5 (20)
Vorhofflimmern	22 (88)	22 (88)	19 (76)	16 (84)	15 (60)	3 (12)
Herzklappen- erkrankungen	8 (32)	17 (68)	7 (28)	5 (26)	17 (68)	2 (8)
Diabetes mellitus	7 (28)	10 (40)	7 (28)	8 (42)	11 (44)	8 (32)
Niereninsuffizienz	7 (28)	3 (12)	12 (48)	5 (26)	7 (28)	3 (12)
Leberinsuffizienz	1 (4)	0	0	0	3 (12)	0
Cerebrale Insulte	12 (48)	1 (4)	5 (20)	5 (26)	5 (20)	1 (4)
Malignome	4 (16)	4 (16)	4 (16)	5 (26)	3 (12)	7 (28)
Hypothyreose	6 (24)	5 (20)	9 (36)	5 (26)	4 (16)	4 (16)
Obstruktive Lungenerkrankung (COPD, Asthma)	3 (12)	2 (8)	2 (8)	2 (11)	2 (8)	3 (12)
ASA- Status [n in %]						
1	0	0	0	0	0	1 (4)
2	6 (24)	5 (20)	2 (12)	3 (16)	1 (4)	14 (56)

Ergebnisse

3	16 (64)	20 (80)	21 (84)	15 (79)	17 (68)	10 (40)
4	3 (12)	0	1 (4)	1 (5)	7 (28)	0
Medikation						
Antihypertensiva	15 (60)	20 (80)	19 (76)	15 (79)	20 (80)	11 (44)
ACE-Hemmer [% Antihypertensiva]	60	35	37	33	35	27
AT1-Rezeptor-Blocker [% Antihypertensiva]	33	60	58	67	55	64
Calciumantagonisten [% Antihypertensiva]	27	40	26	40	25	73
Alphablocker [% Antihypertensiva]	0	15	5	0	5	0
Diuretika	12 (48)	19 (76)	18 (72)	15 (79)	19 (76)	5 (20)
Thiazide [% Diuretika]	33	21	22	33	21	40
Schleifendiuretika [% Diuretika]	92	89	72	73	89	20
Aldosteronantagonisten [% Diuretika]	5	47	56	27	53	40
Herzglykoside	0	0	4 (16)	1 (5)	2 (8)	1 (4)
Amiodaron	3 (12)	4 (16)	1 (4)	1 (5)	5 (20)	0
Betablocker	17 (68)	20 (80)	20 (80)	14 (74)	21 (84)	6 (24)
Thrombozyten-aggregationshemmer	2 (8)	4 (16)	8 (32)	6 (32)	5 (20)	8 (32)
Statine	13 (52)	11 (44)	16 (64)	12 (63)	18 (72)	8 (32)
Orale Antidiabetika	6 (24)	9 (36)	7 (28)	8 (42)	10 (40)	7 (28)
Insulin	0	2 (8)	0	3 (16)	1 (4)	3 (12)
PPI	15 (60)	11 (44)	15 (60)	5 (26)	15 (60)	7 (28)
Glukokortikoide (oral, inhalativ)	6 (24)	3 (12)	3 (12)	1 (5)	4 (16)	0
Antibiotika	6 (24)	4 (16)	5 (20)	3 (16)	4 (16)	2 (8)
Opioide	5 (20)	2 (8)	2 (8)	2 (11)	2 (8)	1 (4)
Antidepressiva	2 (8)	1 (4)	1 (4)	5 (26)	3 (12)	3 (12)
Antikonvulsiva	3 (12)	3 (12)	2 (8)	6 (32)	2 (8)	1 (4)
Sympathomimetika/ Parasympatholytika (inhalativ)	4/3 (16/12)	2/0 (8/0)	½ (4/8)	2/3 (11/16)	1/3 (4/12)	2/0 (8/0)
Schilddrüsenhormon	6 (24)	6 (24)	9 (36)	5 (26)	4 (16)	4 (16)
Klinische Chemie						
Hämoglobin [g/dl]	13,1 (11,2/14,3)	13,5 (12,6/14,8)	13,3 (11,2/14,6)	13,2 (11,8/14,1)	12,5 (11,8/13,9)	13,7 (12,5/15,3)
Hämatokrit [%]	36,9 (32,9/41,3)	40,7 (37,8/44,0)	40,6 (33,8/44,2)	38,9 (35,4/41,6)	38,1 (36,1/42,5)	40,5 (37,2/43,7)
Thrombozyten [$10^9/l$]	234 (183/270)	198 (163/230)	195 (159/225)	201 (161/231)	190 (151/275)	235 (177/266)
INR	1,0 (1,0/1,1)	1,1 (1/1,3)	1,1 (1,0/1,3)	1,2 (0,9/1,2)	2,2 (2,0/2,7)	0,9 (0,9/0,9)
Quick [%]	87 (71/94)	73 (57/98)	74 (60/88)	70 (66/104)	30 (24/34)	113 (108/119)
aPTT [s]	26 (24/29)	28 (26/34)	32 (28/36)	39 (33/43)	34 (32/37)	24 (24/26)
Thrombinzeit [s]	18 (17/19)	17 (17/18)	18 (17/18)	98 (63/149)	18 (17/18)	17 (17/17) n = 24

Ergebnisse

Fibrinogen (Clauss) [mg/dl]	506 (292/460)	369 (341/440)	368 (328/446)	377 (312/426)	338 (317/380)	340 (271/372) n = 24
Kreatinin (Jaffé) [mg/dl]	0,9 (0,8/1,3)	0,9 (0,8/1,2)	1,4 (1,0/1,5)	1,0 (0,9/1,1)	1,2 (1,0/1,4)	0,9 (0,7/1,1)
GFR (CKD-EPI) [ml/min]	67 (44/87) n = 24	64 (54/83) n = 24	49 (36/71) n = 24	66 (57/78) n = 18	66 (38/80)	80 (53/93) n = 24
Albumin [g/dl]	4,0 (3,6/4,2)	4,1 (3,8/4,3)	4,2 (3,9/4,4)	4,0 (3,6/4,4)	4,1 (3,8/4,3)	4,3 (4,1/4,5)

LAE: Lungenarterienembolie; TVT: Tiefe Venenthrombose, COPD: Chronisch obstruktive Lungenerkrankung; ACE (Angiotensin Converting Enzyme) -Hemmer; AT; (Angiotensin1-Rezeptor) -Blocker; PPI: Protonenpumpeninhibitor; Thrombozytenaggregationshemmer: ASS (n = 30), Clopidogrel (n = 1), ASS + Clopidogrel (n = 1); ASA (American Society of Anaesthesiology)-Klassifikation zur Abschätzung des perioperativen Risikos: ASA 1-6.

Ergebnisse

4.2.2 Auswertung in-vivo Daten

Im Folgenden werden die Graphen zur Darstellung der CT der einzelnen Subgruppen (Apixaban, Edoxaban, Rivaroxaban, Dabigatran, Marcumar, Kontrolle) dargestellt (Abbildungen 12-17). Die thrombelastometrischen Variablen und deren Messergebnisse sind in Tabelle 7 aufgeführt.

Alle Patienten mit Einnahme von OAKs zeigen eine signifikante Verlängerung der CT_{EXTM} im Vergleich zur Gruppe ohne OAK (55 s; (53/60)). Wie in Abbildung 12 graphisch darstellt, verlängert Apixaban die CT_{EXTM} signifikant (78 s; (73/95); $p = 0,0012$) im Vergleich zur Kontrollgruppe. Wie bereits im in-vitro Teil schon zu sehen war, zeigt Apixaban die geringste Verlängerung zur Kontrollgruppe (im Vergleich zu den anderen (D)OAKs).

Edoxaban verlängert die CT_{EXTM} (138 s; (91/210); $p < 0,0001$) im Vergleich zur Kontrollgruppe ebenso wie Rivaroxaban (121 s; (94/189); $p < 0,0001$) und Dabigatran (93 s; (76/112); $p < 0,0001$) signifikant. Auch Marcumar verlängert die CT_{EXTM} signifikant (107 s; (84/128); $p < 0,0001$). Edoxaban und Rivaroxaban verlängern die CT_{EXTM} ausgeprägter als Apixaban (Apixaban vs. Edoxaban $p = 0,0124$; Apixaban vs. Rivaroxaban $p = 0,0258$).

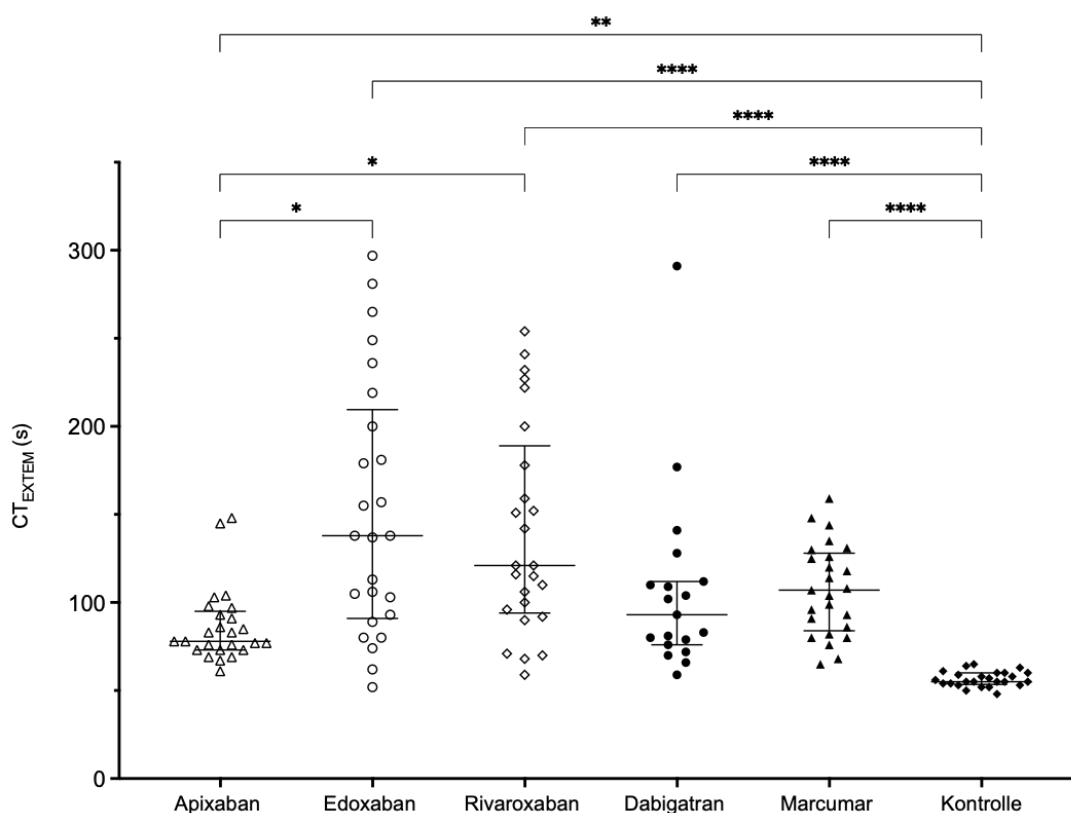


Abbildung 12: Thrombelastometrische Ergebnisse für CT_{EXTM} der Kontrollgruppe und den anderen OAK-Subgruppen. Darstellung der Clotting Time in Sekunden (s), Median + IQR. * $p < 0,05$, * $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$.

Ergebnisse

In Abbildung 13 wird die CT_{FIBTEM} graphisch dargestellt. Auch im FIBTEM zeigt sich bei allen Patienten mit Einnahme von OAKs eine signifikante Verlängerung der CT_{FIBTEM} im Vergleich zur Kontrollgruppe (56 s; (55/59)). Apixaban verlängert die CT_{FIBTEM} signifikant (81 s; (71/98); $p = 0,0004$). Edoxaban (131 s; (87/204); $p < 0,0001$), Rivaroxaban (122s; (94/200); $p < 0,0001$), Dabigatran (90 s; (69/123); $p < 0,0001$) sowie Marcumar (102 s; (80/115); $p < 0,0001$) bewirken eine signifikante Verlängerung der CT_{FIBTEM} . Ein signifikanter Unterschied in der CT_{FIBTEM} -Verlängerung zeigt sich auch zwischen Apixaban und Rivaroxaban (Apixaban vs. Rivaroxaban $p = 0,0399$).

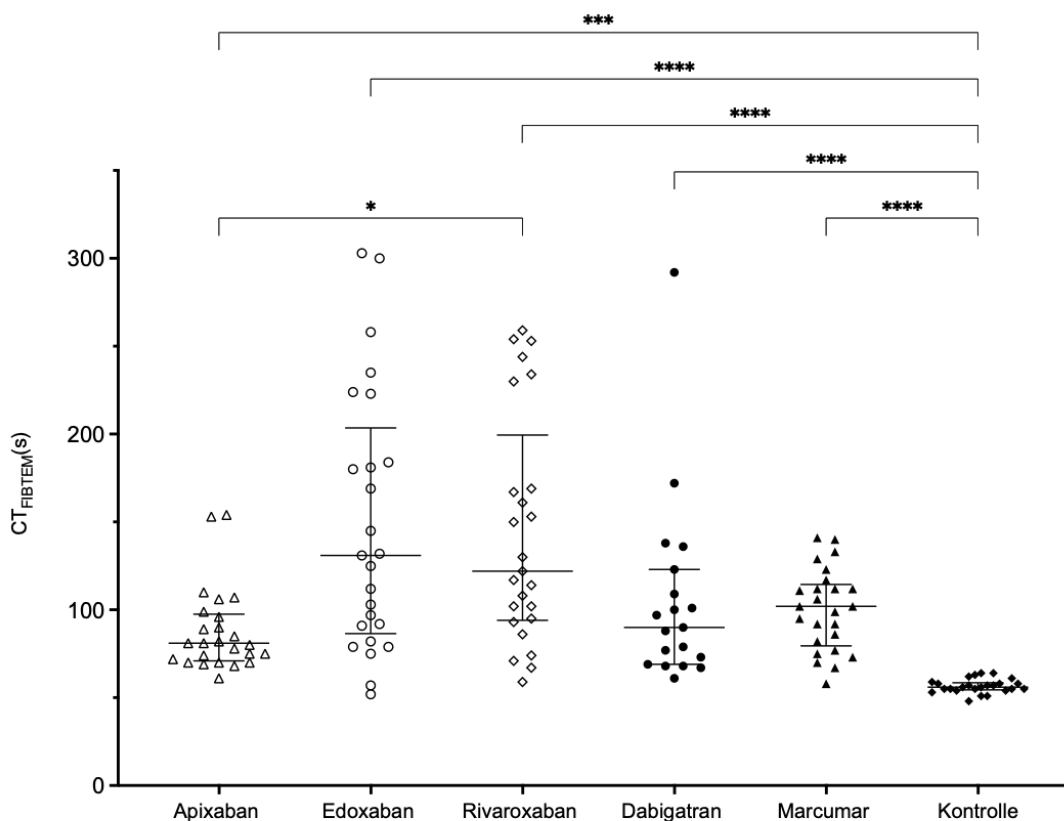


Abbildung 13: Thrombelastometrische Ergebnisse für CT_{FIBTEM} der Kontrollgruppe und den anderen OAK-Subgruppen. Darstellung der Clotting Time in Sekunden (s), Median + IQR. * $p < 0,05$, * $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$.

Ergebnisse

Die CT_{HEPTEM} (siehe Abbildung 14) wird durch Edoxaban (218 s, (206/242); $p = 0,0057$), Rivaroxaban (245 s; (208/277); $p < 0,0001$) und Dabigatran (262 s; (221/311); $p < 0,0001$) im Vergleich zur Kontrollgruppe (183 s; (169/204)) signifikant verlängert. Es besteht ein signifikanter Unterschied der CT_{HEPTEM} zwischen Apixaban (192 s; (182/215)) und Dabigatran ($p < 0,0001$) sowie zwischen Apixaban und Rivaroxaban ($p = 0,0051$). Dabigatran verlängert im Vergleich zu Marcumar (204; (189/234)) die CT_{HEPTEM} signifikant ($p = 0,0080$).

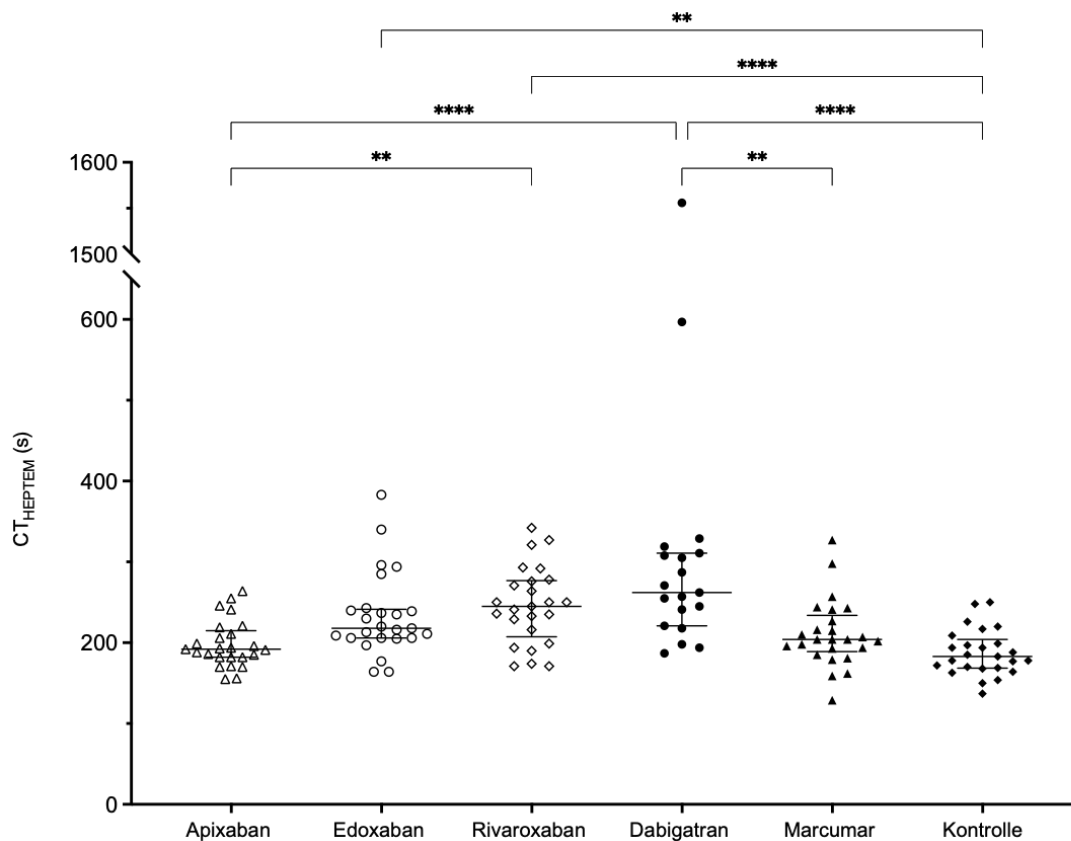


Abbildung 14: Thrombelastometrische Ergebnisse für CT_{HEPTEM} der Kontrollgruppe und den anderen OAK-Subgruppen. Darstellung der Clotting Time in Sekunden (s), Median + IQR. * $p < 0,05$, * $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$.

Ergebnisse

Abbildung 15 zeigt die Veränderungen der CT_{NATEM} . Es zeigt sich sowohl bei Rivaroxaban (883 s; (791/1032); $p = 0,0053$) als auch bei Dabigatran (972 s; (812/1167); $p = 0,0006$) eine signifikante Verlängerung der CT_{NATEM} im Vergleich zur Kontrollgruppe (711 s; (643/791)). Ein signifikanter Unterschied in der CT_{NATEM} Verlängerung besteht bei Apixaban (679 s; (607/803) im Vergleich zu Edoxaban (801 s; (730/957); $p = 0,0332$), zu Rivaroxaban ($p = 0,0016$) und zu Dabigatran ($p = 0,0002$). Die Marcumar-Subgruppe unterscheidet sich nicht signifikant bei der Verlängerung der CT_{NATEM} von den anderen Subgruppen (789 s; (679/1045)).

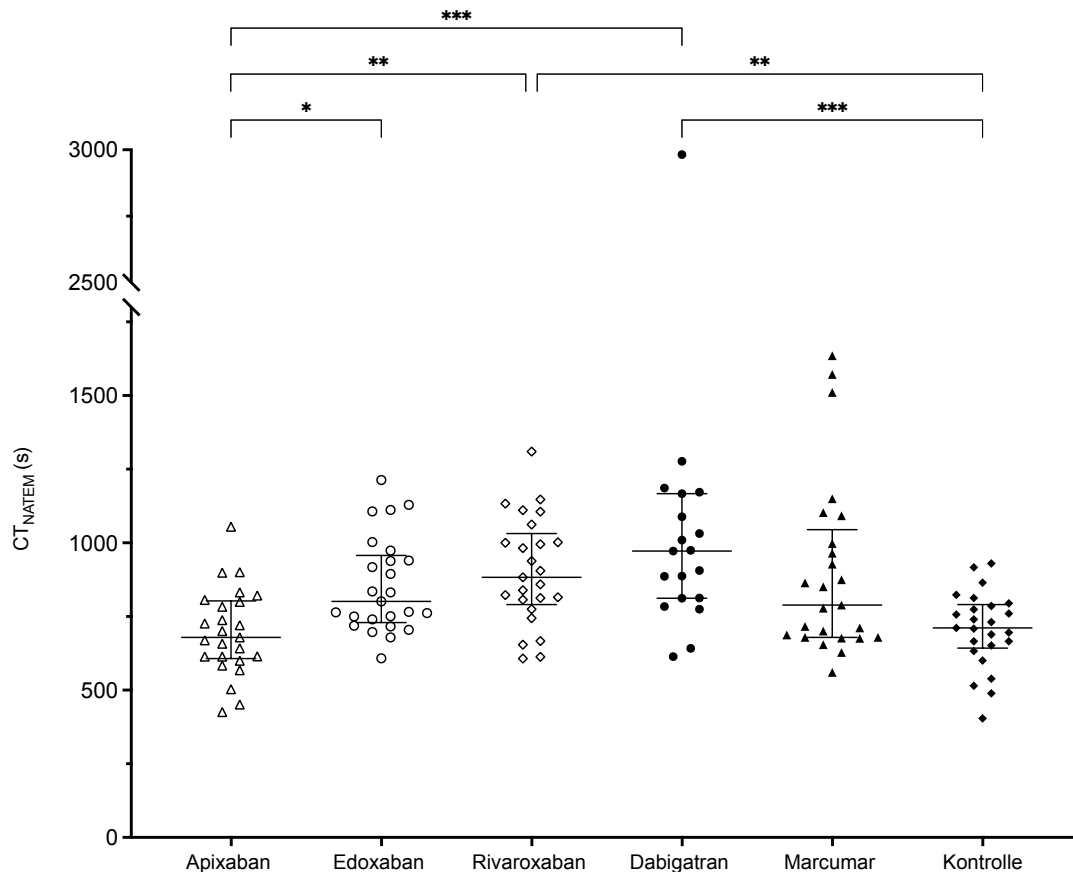


Abbildung 15: Thrombelastometrische Ergebnisse für CT_{NATEM} der Kontrollgruppe und den anderen OAK-Subgruppen. Darstellung der Clotting Time in Sekunden (s), Median + IQR. * $p < 0,05$, * $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$.

Ergebnisse

Abbildung 16 zeigte die Veränderungen der CT_{ECATEM} in den verschiedenen Gruppen. Dabigatran (191 s; (144/256)) verlängert als einziges (D)OAK die CT_{ECATEM} signifikant im Vergleich zur Kontrollgruppe ($p = 0,0001$) und auch im Vergleich zu allen anderen oralen Antikoagulanzen (vs. Apixaban: 82 s; (74/89); $p < 0,0001$; vs. Edoxaban: 92 s; (84/99) s; $p < 0,0001$; vs. Rivaroxaban: 92 s; (85/ 101); $p < 0,0001$; vs. Marcumar: 86 s; (75/95); $p < 0,0001$).

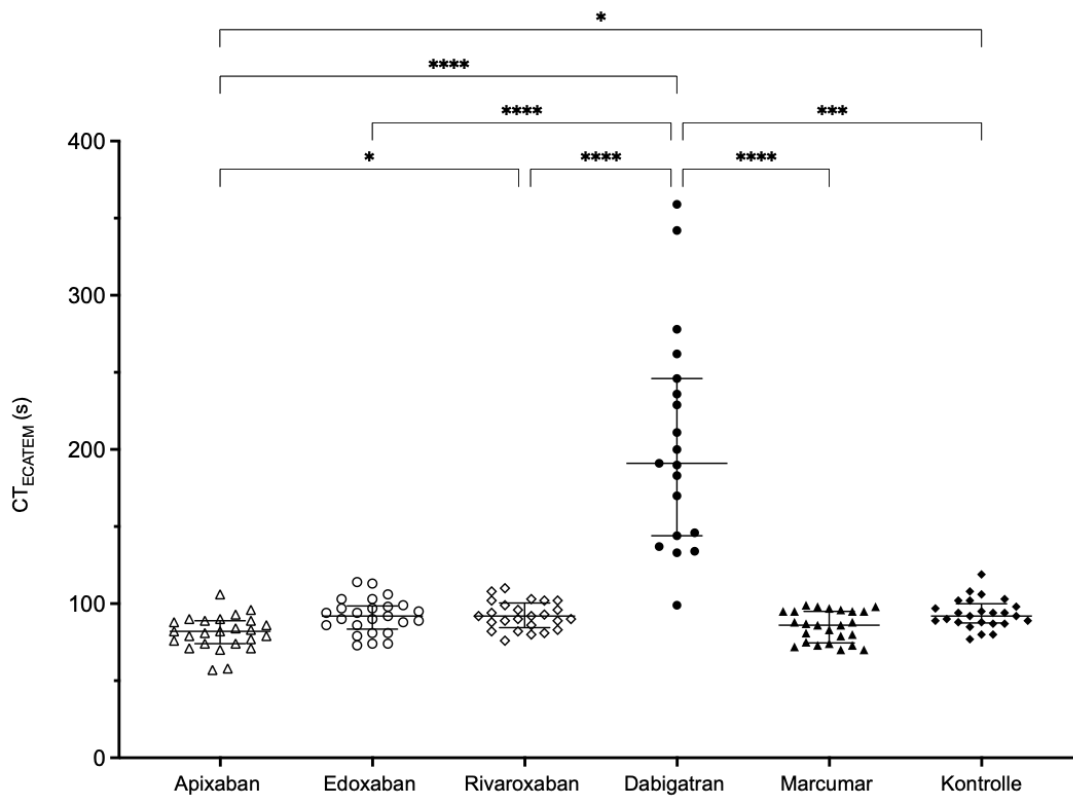


Abbildung 16: Thrombelastometrische Ergebnisse für CT_{ECATEM} der Kontrollgruppe und den anderen OAK-Subgruppen. Darstellung der Clotting Time in Sekunden (s), Median + IQR. * $p < 0.05$, * $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$.

Ergebnisse

Abbildung 17 zeigt die Veränderungen der CT_{TFTEM} in den verschiedenen Gruppen. Es zeigt sich, dass im Vergleich zur Kontrollgruppe (137 s; (122/156)) die CT_{TFTEM} durch Apixaban (317 s; (294/353); $p < 0,0001$), Edoxaban (405 s, (324/485); $p < 0,0001$), Rivaroxaban (329 s; (350/509); $p < 0,0001$) als auch durch Marcumar (317 s; (262/349); $p < 0,0001$) signifikant verlängert wird. Dabigatran führt zu keiner signifikanten Verlängerung der CT_{TFTEM} (234 s; (204/256); $p = 0,0828$).

Die CT_{TFTEM} ist signifikant länger bei Edoxaban und Rivaroxaban im Vergleich zu Dabigatran (Edoxaban vs. Dabigatran: $p = 0,0003$; Rivaroxaban vs. Dabigatran: $p = 0,0002$).

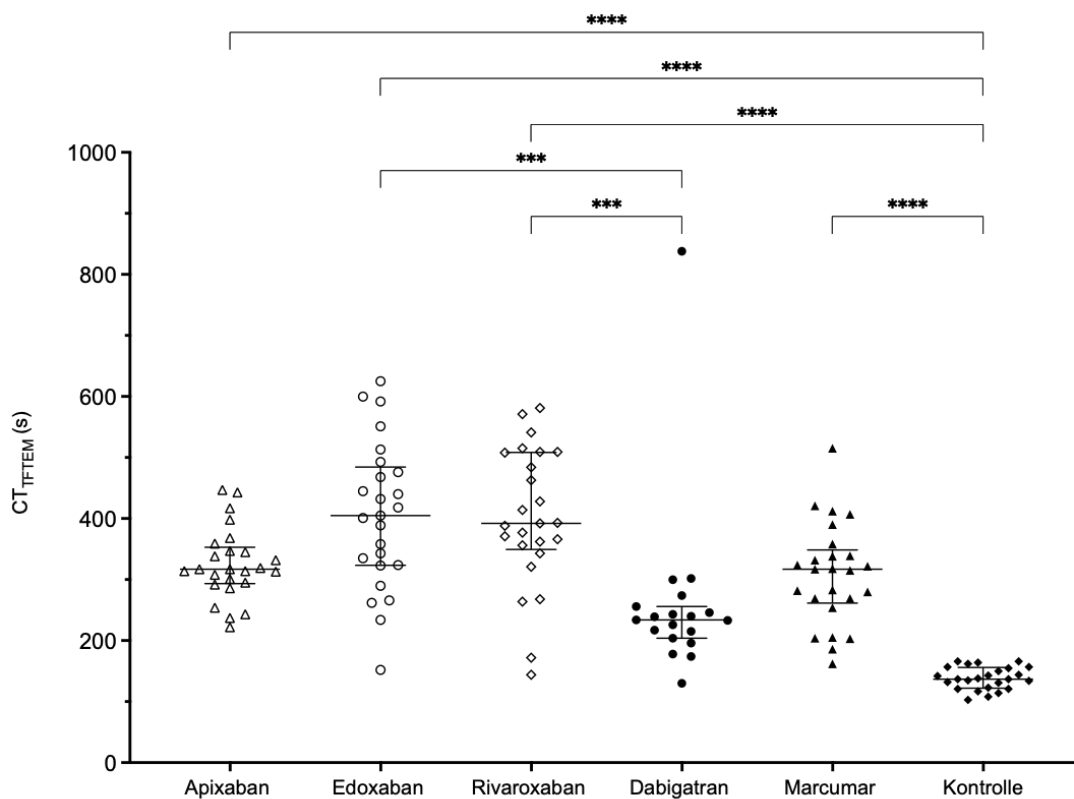


Abbildung 17: Thrombelastometrische Ergebnisse für CT_{TFTEM} der Kontrollgruppe und den anderen OAK-Subgruppen. Darstellung der Clotting Time in Sekunden (s), Median + IQR. * $p < 0,05$, * $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$.

Ergebnisse

Der folgende Abschnitt vergleicht den Einfluss der Xa-Inhibitoren Apixaban, Edoxaban und Rivaroxaban im Vergleich zu Dabigatran und Marcumar auf die Clotting Time. Hierzu wurden die CT-Werte der Xa-Inhibitoren gepoolt (n = 75).

Im Vergleich zur Kontrollgruppe (55 s; (53/60)) zeigt sich eine signifikante Verlängerung der CT_{EXTM} durch Xa-Inhibitoren (103 s; (78/155); $p < 0,0001$), IIa-Inhibitoren (93 s; (76/112); $p < 0,0001$) und VKA (107 s; (84/128); $p < 0,0001$). Es gibt keinen signifikanten Unterschied zwischen den Subgruppen der Patienten mit OAK. Siehe hierzu Abbildung 18.

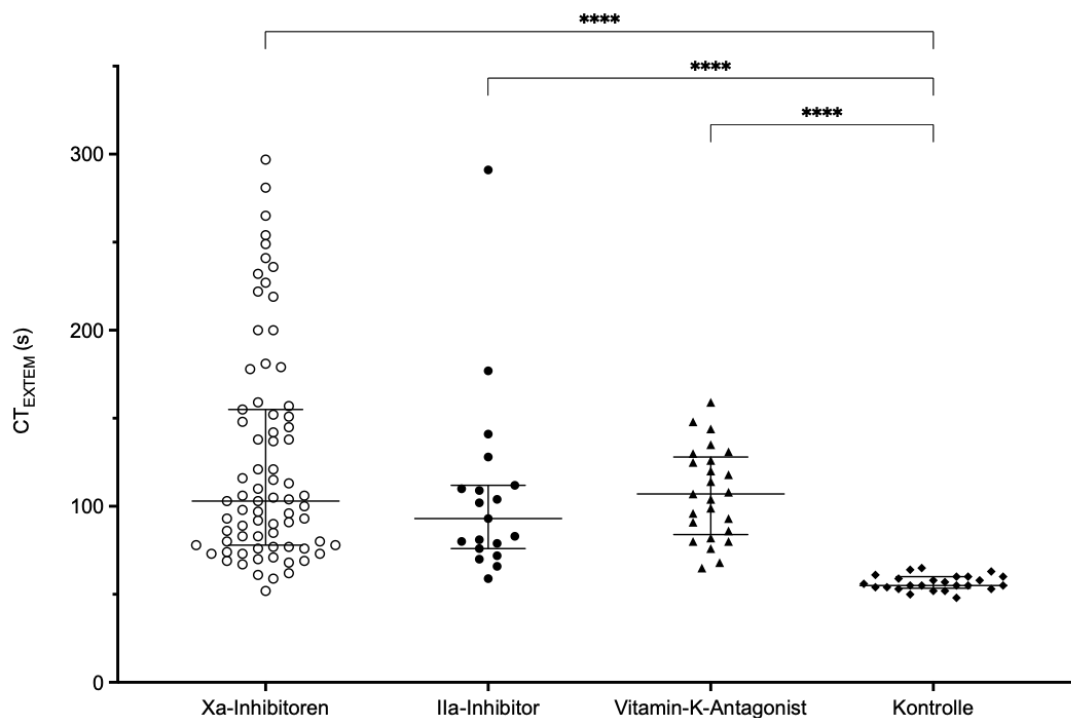


Abbildung 18: Thrombelastometrische Ergebnisse für CT_{EXTM} der Kontrollgruppe, VKA (Marcumar), IIa-Inhibitoren (Dabigatran) und Xa-Inhibitoren (Apixaban, Edoxaban, Rivaroxaban). Darstellung der Clotting Time in Sekunden (s), Median + IQR. * $p < 0.05$, * $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$.

Ergebnisse

Mit der CT_{FIBTEM} verhält es sich ebenso wie mit der CT_{EXTEM} (siehe Abbildung 19). Im Vergleich zur Kontrollgruppe (56 s; (55/59)) zeigt sich für alle anderen Gruppen eine signifikante Verlängerung der CT_{FIBTEM} (vs. Xa-Inhibitoren: 102 s; (79/161); $p < 0,0001$; vs. IIa-Inhibitoren: 90 s; (69/123); $p < 0,0001$; vs. VKA: 102 s; (80/115); $p < 0,0001$). Zwischen den Gruppen unter Antikoagulation gibt es keinen signifikanten Unterschied bei der CT_{FIBTEM} .

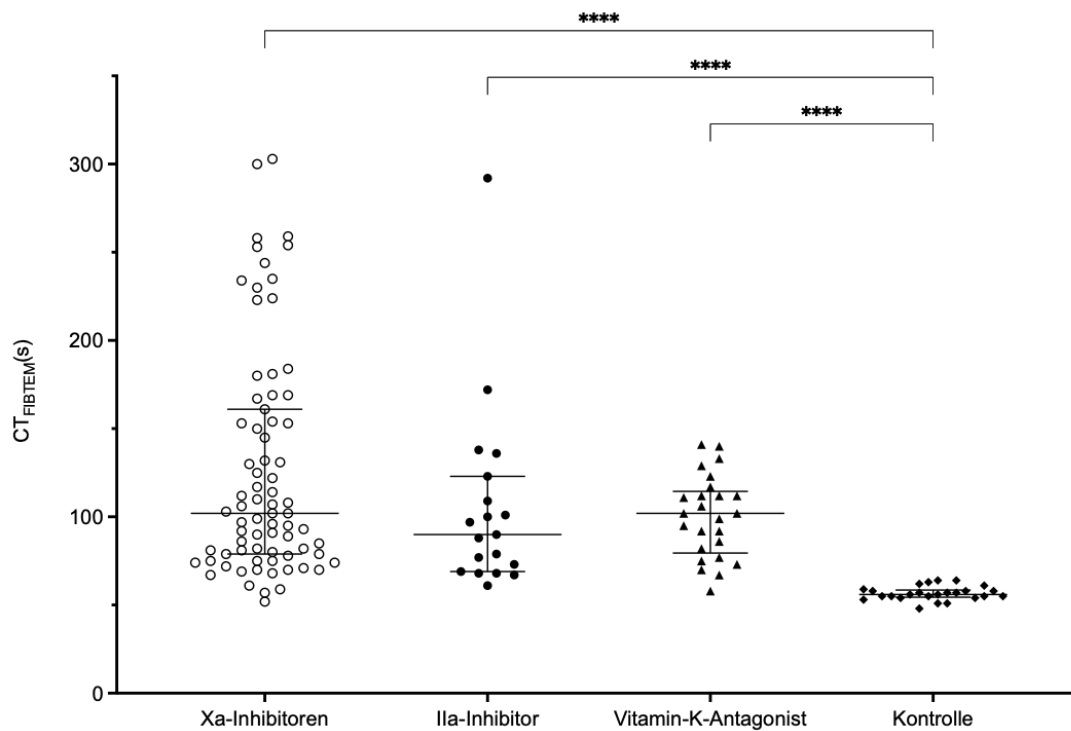


Abbildung 19: Thrombelastometrische Ergebnisse für CT_{FIBTEM} der Kontrollgruppe, VKA (Marcumar), IIa-Inhibitoren (Dabigatran) und Xa-Inhibitoren (Apixaban, Edoxaban, Rivaroxaban). Darstellung der Clotting Time in Sekunden (s), Median + IQR. * $p < 0,05$, * $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$.

Ergebnisse

Abbildung 20 zeigt die Veränderungen der CT_{HEPTEM} . Dabigatran verlängert die CT_{HEPTEM} signifikant (Kontrolle: 183 s; (169/104) vs. Dabigatran: 262 s; (221/311); $p < 0,0001$). Xa-Inhibitoren (216 s; (191/250)) verlängern die CT_{HEPTEM} signifikant ($p = 0,0014$). VKAs (204 s; (189/234)) verlängern die CT_{HEPTEM} im Vergleich zu Dabigatran signifikant ($p = 0,0032$). Zwischen Xa-Inhibitoren und IIa-Inhibitoren besteht ebenfalls ein signifikanter Unterschied ($p = 0,0133$).

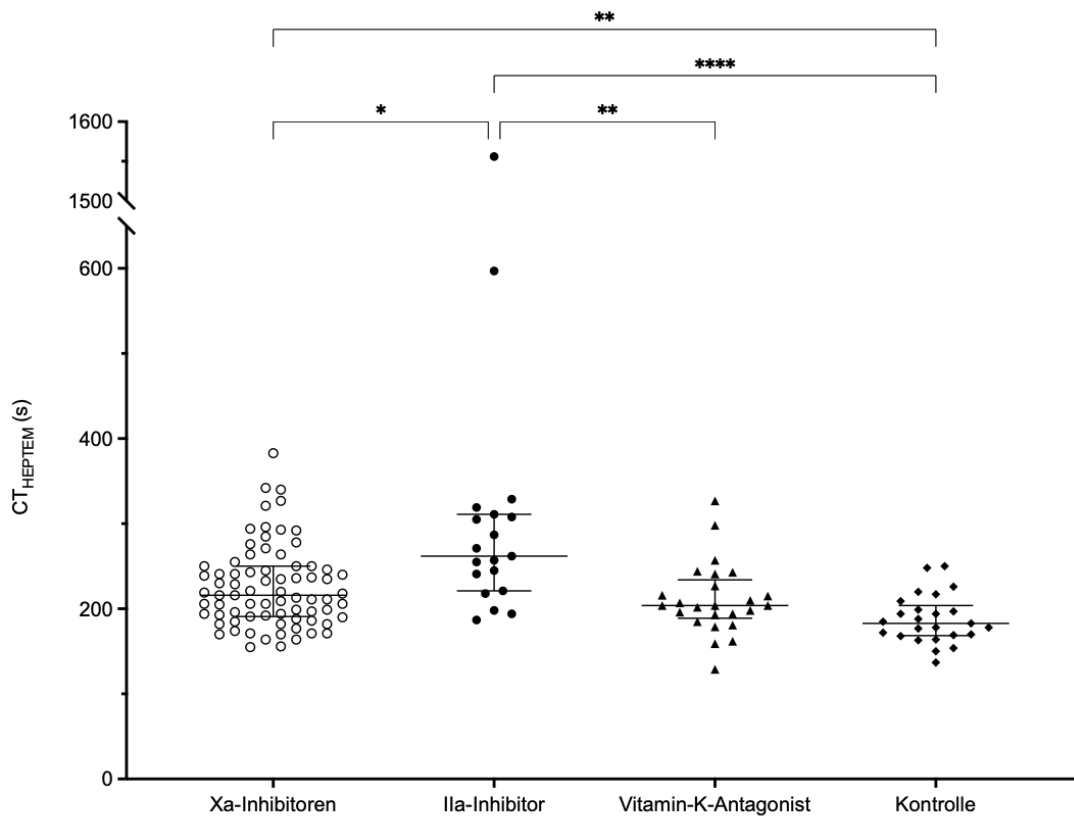


Abbildung 20: Thrombelastometrische Ergebnisse für CT_{HEPTEM} der Kontrollgruppe, VKA (Marcumar), IIa-Inhibitoren (Dabigatran) und Xa-Inhibitoren (Apixaban, Edoxaban, Rivaroxaban). Darstellung der Clotting Time in Sekunden (s), Median + IQR. * $p < 0,05$, * $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$.

Ergebnisse

Im NATEM (siehe Abbildung 21) zeigt sich eine signifikante Verlängerung der CT im Vergleich zur Kontrollgruppe (711 s; (643/791)) nur durch IIa-Inhibitoren (972 s; (812/1167); $p = 0,0002$). Zwischen Xa-Inhibitoren (801 s; (679/938)) und IIa-Inhibitoren zeigt sich ein signifikanter Unterschied ($p = 0,0472$). VKAs (789 s; (679/1045)) beeinflussen die CT_{NATEM} nicht signifikant.

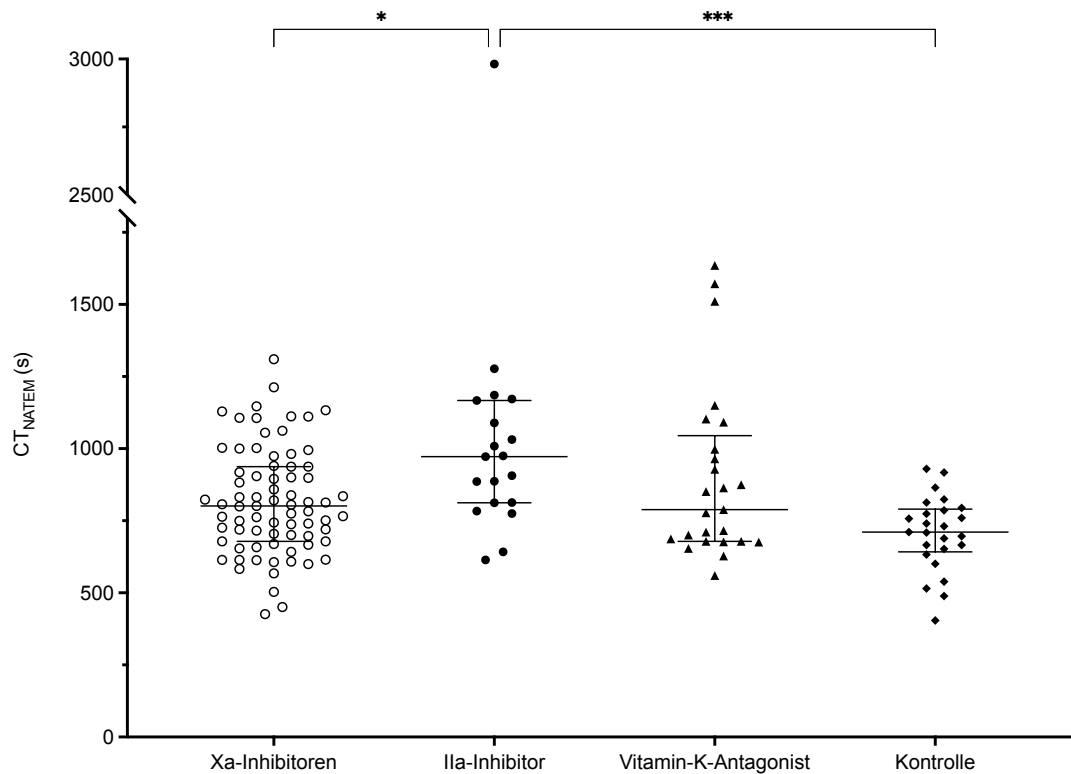


Abbildung 21: Thrombelastometrische Ergebnisse für CT_{NATEM} der Kontrollgruppe, VKA (Marcumar), IIa-Inhibitoren (Dabigatran) und Xa-Inhibitoren (Apixaban, Edoxaban, Rivaroxaban). Darstellung der Clotting Time in Sekunden (s), Median + IQR. * $p < 0.05$, * $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$.

Ergebnisse

Die CT_{ECTAEM} (siehe Abbildung 22) verlängert sich durch Iia-Inhibitoren (191 s; (144/246)) signifikant im Vergleich zur Kontrollgruppe (92 s; (88/100); $p < 0,0001$). Die Xa-Inhibitoren verlängern die CT_{ECATEM} nicht (Xa-Inhibitoren: 89s (81/96) vs. Kontrolle: 92s (88/100); $p=0,7336$) Zwischen Xa-Inhibitoren (89 s; (81/96)) und Iia-Inhibitoren zeigt sich ein signifikanter Unterschied in der CT_{ECATEM} ($p < 0,0001$). Auch die CT_{ECATEM} der Iia-Inhibitoren und VKA (86 s; (75/95)) weist einen signifikanten Unterschied ($p < 0,0001$) auf.

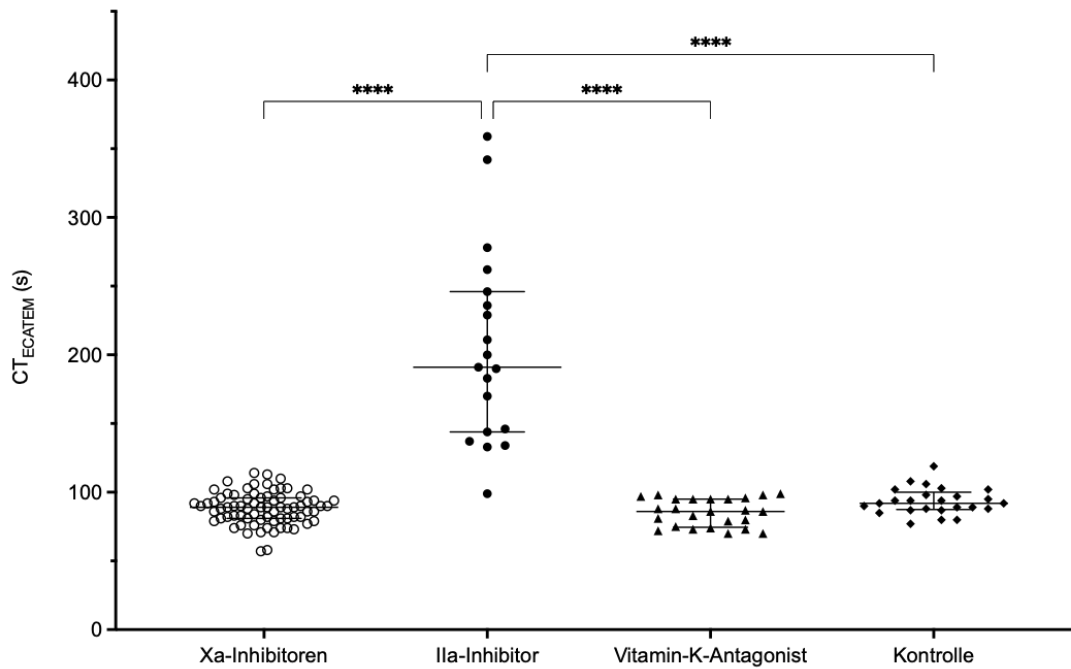


Abbildung 22: Thrombelastometrische Ergebnisse für CT_{ECATEM} der Kontrollgruppe, VKA (Marcumar), Iia-Inhibitoren (Dabigatran) und Xa-Inhibitoren (Apixaban, Edoxaban, Rivaroxaban). Darstellung der Clotting Time in Sekunden (s), Median + IQR. * $p < 0,05$, * $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$.

Ergebnisse

Xa-Inhibitoren (362; (313/445); $p < 0,0001$) verlängern die CT_{TFTEM} signifikant im Vergleich zur Kontrollgruppe (137 s; (122/156)). VKA (317 s; (262/349); $p < 0,0001$) verlängern die CT_{TFTEM} ebenso signifikant im Vergleich zu Kontrollgruppe. IIa-Inhibitoren (234 s; (204/256); $p = 0,0331$) zeigen eine signifikante Verlängerung der CT_{TFTEM} . Die CT_{TFTEM} der Xa-Inhibitoren und IIa-Inhibitoren unterscheidet sich signifikant ($p < 0,0001$). Die graphische Darstellung findet sich in Abbildung 23.

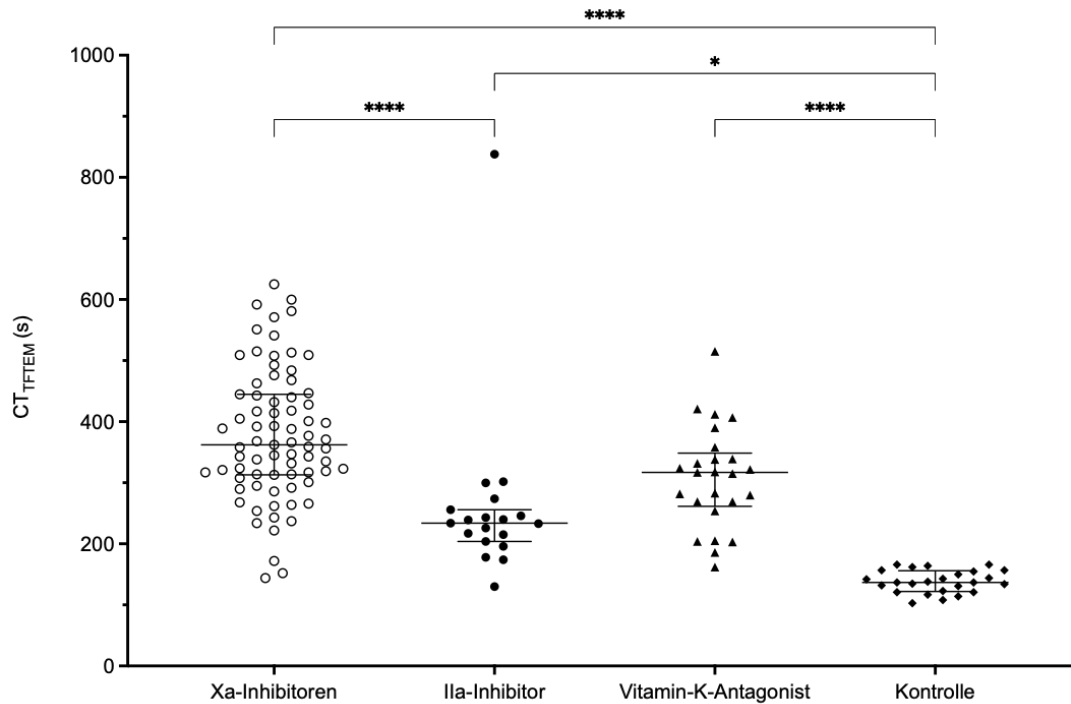


Abbildung 23: Thrombelastometrische Ergebnisse für CT_{TFTEM} der Kontrollgruppe, VKA (Marcumar), IIa-Inhibitoren (Dabigatran) und Xa-Inhibitoren (Apixaban, Edoxaban, Rivaroxaban). Darstellung der Clotting Time in Sekunden (s), Median + IQR. * $p < 0,05$, * $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$.

Ergebnisse

Tabelle 7: Thrombelastometrische Variablen CT, CFT, A5, A10 und MCF für die einzelnen Subgruppen. Werte werden als Median (Q1/Q3) angegeben.

Parameter	Apixaban (n = 25)	Edoxaban (n = 25)	Rivaroxaban (n = 25)	Dxa-I. (n = 75)	Dabigatran (n = 19)	Marcumar (n = 25)	Kontrolle (n = 25)
CT _{EXTM} [s]	78 (73/95)	138 (91/210)	121 (94/189)	103 (78/155)	93 (76/112)	107 (84/128)	55 (54/60)
CT _{FIBTEM} [s]	81 (71/98)	131 (87/204)	122 (94/200)	102 (79/161)	90 (69/123)	102 (79,5/115)	56 (55/59)
CT _{HEPTEM} [s]	192 (182/215)	218 (206/242)	245 (208/277)	216 (191/250)	262 (221/311)	204 (189/234)	183 (169/204)
CT _{NATEM} [s]	679 (607/803)	801 (730/957)	883 (791/1032)	801 (679/938)	972 (812/1167)	789 (679/1045)	711 (643/791)
CT _{ECATEM} [s]	82 (74/89)	92 (84/99)	92 (85/101)	89 (81/96)	191 (144/246)	86 (75/95)	92 (88/100)
CT _{TFTEM} [s]	317 (294/353)	405 (324/485)	392 (350/509)	362 (313/445)	234 (204/256)	317 (262/349)	137 (122/156)
CFT _{EXTM} [s]	54 (47/66)	60 (55/67)	60 (55/66)	59 (53/66)	62 (49/69)	53 (47/62)	69 (51/81)
CFT _{FIBTEM} [s]	0 (0/187)	193 (0/1104)	0 (0/360)	0 (0/380)	0 (0/435)	0 (0/406)	0 (0/266)
CFT _{HEPTEM} [s]	57 (47/72)	63 (56/71)	66 (55/76)	60 (52/73)	59 (52/74)	61 (49/67)	64 (52/78)
CFT _{NATEM} [s]	181 (157/220)	208 (175/266)	237 (208/313)	212 (176/293)	255 (185/338)	236 (178/437)	225 (191/275)
CFT _{ECATEM} [s]	78 (68/82)	75 (69/82)	75 (69/81)	75 (69/81)	76 (69/85)	73 (63/78)	77 (71/85)
CFT _{TFTEM} [s]	105 (82/125)	105 (94/128)	101 (86/141)	103 (89/130)	77 (67/109)	92 (70/117)	91 (67/100)
A5 _{EXTM} [mm]	53 (48/59)	52 (49/55)	52 (50/55)	52 (49/56)	51 (49/55)	53 (50/57)	49 (44/56)
A5 _{FIBTEM} [mm]	16 (13/21)	16 (14/19)	15 (14/19)	16 (13/19)	16 (13/19)	16 (14/20)	16 (13/17)
A5 _{HEPTEM} [mm]	47 (44/53)	48 (45/51)	47 (46/51)	48 (45/52)	49 (44/51)	50 (47/54)	46 (42/52)
A5 _{NATEM} [mm]	32 (27/42)	29 (23/34)	26 (20/30)	28 (21/34)	24 (17/33)	27 (13/34)	26 (22/30)
A5 _{ECATEM} [mm]	52 (48/58)	52 (49/55)	53 (50/54)	52 (49/55)	51 (47/51)	53 (50/56)	50 (46/54)
A5 _{TFTEM} [mm]	43 (38/49)	42 (40/47)	42 (38/49)	42 (38/48)	46 (38/49)	46 (41/50)	44 (41/50)
A10 _{EXTM} [mm]	62 (57/68)	61 (59/64)	61 (60/64)	61 (58/65)	60 (57/63)	62 (59/65)	58 (54/65)
A10 _{FIBTEM} [mm]	17 (14/23)	18 (14/21)	17 (15/21)	17 (14/21)	17 (14/21)	17 (15/21)	17 (15/19)
A10 _{HEPTEM} [mm]	54 (52/61)	57 (55/61)	57 (55/60)	57 (54/60)	57 (54/59)	58 (55/63)	55 (51/61)
A10 _{NATEM} [mm]	46 (41/59)	45 (40/50)	42 (38/48)	44 (39/52)	41 (33/51)	44 (30/49)	40 (26/47)
A10 _{ECATEM} [mm]	62 (59/69)	62 (59/66)	64 (61/65)	63 (60/66)	60 (58/62)	63 (61/66)	61 (57/66)
A10 _{TFTEM} [mm]	55 (51/61)	55 (53/58)	54 (52/61)	55 (51/60)	57 (49/59)	57 (54/60)	57 (53/61)
MCF _{EXTM} [mm]	66 (62/72)	66 (65/69)	67 (66/70)	67 (65/70)	67 (63/69)	67 (65/70)	64 (62/70)
MCF _{FIBTEM} [mm]	19 (15/25)	19 (15/22)	18 (16/23)	19 (15/24)	18 (15/23)	19 (16/23)	17 (15/20)
MCF _{HEPTEM} [mm]	60 (56/66)	62 (60/65)	63 (61/65)	62 (59/65)	63 (58/65)	64 (61/67)	60 (57/65)
MCF _{NATEM} [mm]	57 (52/67)	58 (54/61)	56 (55/64)	57 (53/64)	58 (49/66)	57 (53/64)	52 (50/60)
MCF _{ECATEM} [mm]	69 (67/75)	69 (68/73)	70 (69/72)	70 (68/73)	67 (66/70)	71 (68/73)	68 (65/73)
MCF _{TFTEM} [mm]	64 (60/68)	64 (61/67)	64 (61/68)	64 (61/67)	65 (60/67)	65 (62/68)	65 (62/69)

CT: Clotting Time; CFT: Clotting Formation Time; A5: Amplitude in mm nach 5 Minuten; A10: Amplitude in mm nach 10 min; MCF: Maximum Clot Firmness.

Ergebnisse

Im nächsten Schritt wurde untersucht, wie gut die Anti-Xa- bzw. Anti-IIa-Aktivität mit der Clotting Time der verschiedenen thrombelastometrischen Teste korrelieren. Die entsprechenden Ergebnisse sind in Tabelle 8 dargestellt.

Tabelle 8: Substanzspezifische Anti-Xa- bzw. -IIa-Aktivitäten der ausgewerteten in-vivo Proben (Gesamtübersicht)

Apixaban (ng/ml)	Edoxaban (ng/ml)	Rivaroxaban (ng/ml)	Dabigatran (ng/ml)
16	47	35	30
93	272	68	30
45	117	37	30
98	11	125	170
130	164	136	110
136	249	176	290
62	104	258	40
104	2	42	90
411	87	484	30
497	72	10	40
141	137	10	100
219	33	51	60
103	149	10	140
219	339	56	107
238	275	372	30
44	22	56	240
111	131	51	140
80	36	170	110
82	7	314	102
135	2	298	
451	10	255	
436	75	83	
108	104	420	
66	46	74	
183	15	274	

Ergebnisse

Tabelle 9: Korrelation Anti-Xa- bzw. Anti-IIa-Aktivität mit der Clotting Time verschiedener thrombelastometrischer Tests. Angabe des Spearman-Korrelationskoeffizienten r (95%-Konfidenzintervalls und p-Wert).

	Anti-Xa-Aktivität Apixaban	Anti-Xa-Aktivität Edoxaban	Anti-Xa-Aktivität Rivaroxaban	Anti-IIa-Aktivität Dabigatran
CT_{EXTEM}	0,6854 (0,3876 – 0,8536; p = 0,0002)	0,9656 (0,9204 – 0,9853; p < 0,0001)	0,9490 (0,8834 – 0,9781; p < 0,0001)	0,5470 (0,1092 – 0,8071; p = 0,0154)
CT_{FIBTEM}	0,5598 (0,1996 – 0,7867; p = 0,0036)	0,9686 (0,9274 – 0,9866; p < 0,0001)	0,9544 (0,8954 – 0,9804; p < 0,0001)	0,5362 (0,09401 – 0,8017; p = 0,0180)
CT_{HEPTEM}	0,2688 (-0,1535 – 0,608; p = 0,1939)	0,6536 (0,3375 – 0,8372; p = 0,0004)	0,6175 (0,2828 – 0,8181; p = 0,001)	0,5984 (0,1841 – 0,8322; p = 0,0068)
CT_{NATEM}	0,6462 (0,3262 – 0,8333; p = 0,0005)	0,6768 (0,3739 – 0,8492; p = 0,0002)	0,6230 (0,2911 – 0,8211; p = 0,0009)	0,5107 (0,05909 – 0,7887; p = 0,0255)
CT_{ECATEM}	0,1479 (-0,2740 – 0,5221; p = 0,4805)	0,1189 (-0,3012 – 0,5003; p = 0,5715)	0,2004 (-0,2233 – 0,5604; p = 0,3368)	0,9008 (0,7495 – 0,9626; p < 0,0001)
CT_{TFTEM}	0,6319 (0,3044 – 0,8258; p = 0,0007)	0,9169 (0,8141 – 0,9640; p < 0,0001)	0,8839 (0,7456 – 0,9492; p < 0,0001)	0,5656 (0,1358 – 0,8163; p = 0,0116)
CT_{TFTEM} x A5_{TFTEM} / 100	0,2382 (-0,1852 – 0,5870; p = 0,2516)	0,8178 (0,6168 – 0,9186; p < 0,0001)	0,7570 (0,5072 – 0,8895; p < 0,0001)	0,3289 (-0,1614 – 0,6890; p = 0,1691)
CT_{TFTEM} x A5_{FIBTEM} / 100	-0,01520 (-0,4181 – 0,3927; p = 0,9425)	0,6037 (0,2624 – 0,8107; p = 0,0014)	0,5458 (0,1802 – 0,7789; p = 0,0048)	0,2456 (-0,2485 – 0,6382; p = 0,3109)
CT_{TFTEM} / CT_{ECATEM}	0,4034 (-0,002527 – 0,6952; p = 0,0455)	0,8199 (0,6208 – 0,9197; p < 0,0001)	0,7133 (0,4331 – 0,8678; p < 0,0001)	-0,7784 (-0,9131 – (-0,4906); p < 0,0001)
CT_{TFTEM} x CT_{ECATEM} / 100	0,5071 (0,1279 – 0,7570; p = 0,0097)	0,8393 (0,6576 – 0,9287; p < 0,0001)	0,9097 (0,7989 – 0,9608; p < 0,0001)	0,6685 (0,2945 – 0,8649; p = 0,0018)
CT_{HEPTEM} x A5_{FIBTEM} / 100	-0,1635 (-0,5336 – 0,2592; p = 0,4348)	0,2224 (-0,2013 – 0,5760; p = 0,2853)	0,3207 (-0,09750 – 0,6426; p = 0,1181)	0,4087 (-0,07030 – 0,7346; p = 0,0823)

CT: Clotting Time. Die gemessenen Anti-Xa-Aktivitäten korrelieren sehr gut mit der CT_{EXTEM}, CT_{FIBTEM} und CT_{TFTEM}. Die Anti-IIa-Aktivitäten dahingegen korrelieren ausschließlich und sehr gut mit der CT_{ECATEM}. Unter den Xa-Inhibitoren weist Apixaban die schwächste Korrelation mit der CT auf.

Ergebnisse

4.2.3 Überprüfung des Algorithmus

In dem von Schäfer et al. publizierten Algorithmus zur Differenzierung verschiedener Koagulopathien konnten die Proben in 98% der Fälle korrekt zugeordnet werden. Der Algorithmus ist in Abbildung 24 dargestellt. (47). Wir haben mit den im Rahmen dieser Studie erhobenen Proben den Algorithmus überprüft und analysiert, wie hoch der Anteil korrekter Detektionen ist.

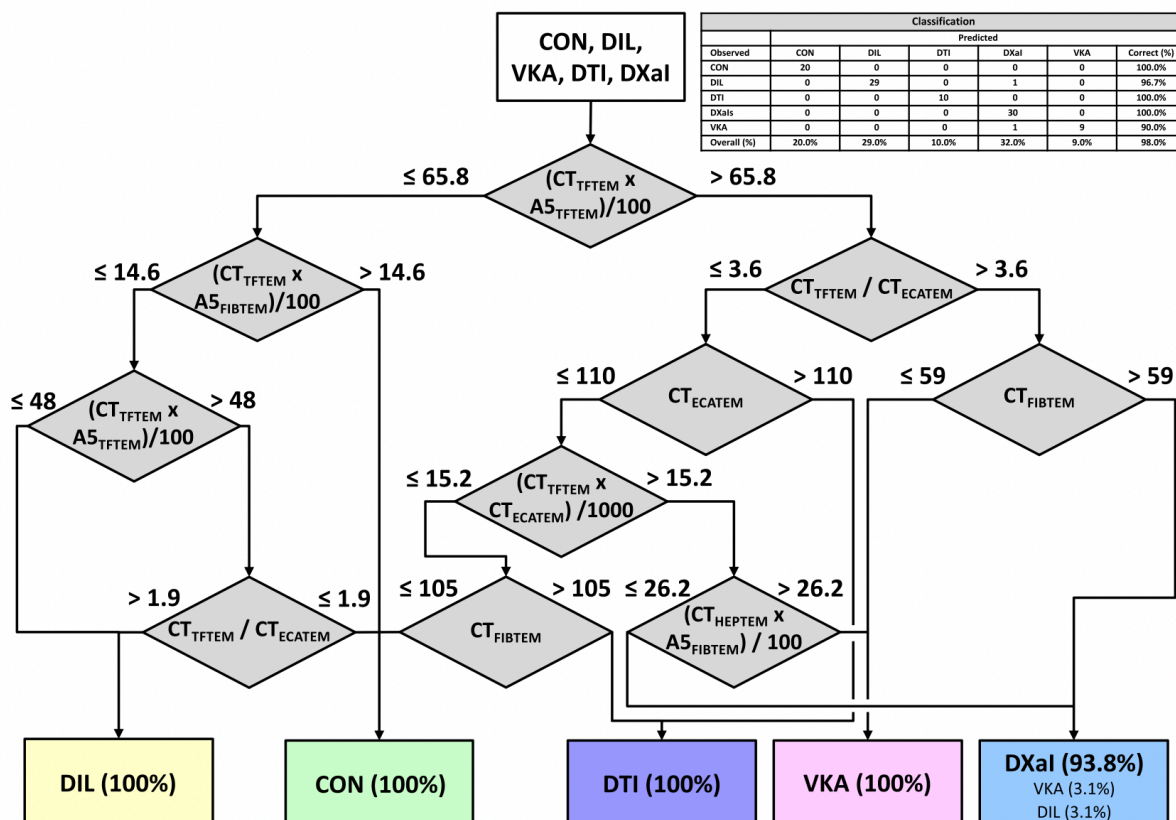


Abbildung 24: Entscheidungsbaum bestehend aus Parametern verschiedener thrombelastometrischer Tests (FIBTEM, HEPTEM, ECATEM, TFTEM). Die Prozentangaben in den Boxen zeigen den Anteil der durch den Algorithmus erfassten Proben auf der entsprechenden Stufe an. CON: Kontrolle; DIL: Dilutionskoagulopathie; VKA: Vitamin-K-Antagonist; DTI: Direkter Thrombin-Inhibitor (Dabigatran); DXal: Direkter Faktor-Xa-Inhibitor (Apixaban, Edoxaban, Rivaroxaban). Entnommen aus (47) mit der Genehmigung i. R. von Open Access; Creative Commons Attribution 4.0 International License

Die Proben ohne Einnahme eines Antikoagulans oder andere bekannte Koagulopathie wurden in 88% (22/25) korrekt zugeordnet. Proben mit Dabigatran wurden in 84,2% (16/19) korrekt zugeordnet. Die Xa-Inhibitoren wurden in 80% der Fälle (60/75) richtig zugeordnet und Marcumar lediglich in 32% (8/25) der Fälle.

Ergebnisse

Damit wurden 106 von 144 Proben über den bestehenden Algorithmus der richtigen Koagulopathie zugeordnet (korrekte Zuordnung 73,6%). Die Überprüfung ergab eine korrekte Zuordnung für die DOAKs von 81% und für alle OAKs (inklusive VKA) 71%.

Tabelle 10: Klassifikationstabelle der Messergebnisse auf Basis des bestehenden Algorithmus (47).

Klassifikation					
	Vorhergesagt				
Beobachtet	CON	DTI	DXal	VKA	Richtig [%]
CON	22	0	1	2	88%
DTI	2	16	1	0	84,2%
DXal	3	1	60	11	80%
VKA	1	0	16	8	32%
Gesamt [%]	19,4%	11,8%	54,2%	14,6%	73,6 %

CON: Kontrolle; DIL: Dilution; DTI: Direkter Thrombininhibitor (Dabigatran); DxaI: Direkter Xa-Inhibitor (Apixaban, Edoxaban, Rivaroxaban); VKA: Vitamin-K-Antagonist (Marcumar). Σ Proben = 144

Wie Tabelle 10 zu entnehmen ist, wurden 2 Kontrollproben als VKA und 1 Kontrollprobe als DXal falsch zugeordnet. In der Gruppe der DTI wurden 2 Proben als Kontrolle und 1 Probe als DXal falsch klassifiziert. DXal wurden in der Mehrheit als VKA (11 Proben), zu einem geringeren Anteil als Kontrolle (3 Proben) oder DTI (1 Probe) fehlklassifiziert. 16 VKA-Proben wurden als DXal und 1 VKA-Probe als Kontrolle falsch zugeordnet.

Tabelle 11: Klassifikationstabelle für die DXal-Subgruppen Apixaban, Edoxaban und Rivaroxaban.

Klassifikation					
	Vorhergesagt				
Beobachtet	CON	DTI	DXal	VKA	Richtig [%]
Apixaban	0	0	23	2	92%
Edoxaban	2	1	16	6	64%
Rivaroxaban	1	0	21	3	84%
Gesamt [%]	4%	1,3%	80%	14,7%	80%

CON: Kontrolle; DIL: Dilution; DTI: Direkter Thrombininhibitor (Dabigatran); DxaI: Direkter Xa-Inhibitor (Apixaban, Edoxaban, Rivaroxaban); VKA: Vitamin-K-Antagonist (Marcumar). Σ DXal-Proben = 75

In der Gruppe der DXal zeigten sich substanzspezifische folgende Fehlklassifizierungen: 2 von 25 Apixaban-Proben wurden als VKA fehlklassifiziert. In der Edoxaban-Subgruppe wurden 9 Proben falsch zugeordnet, davon 6 Proben als VKA, 2 Proben als Kontrolle und 1 Probe als DTI. Bei den Rivaroxaban-Proben zeigte sich, dass 3 Proben als VKA und 1 Probe als Kontrolle klassifiziert wurden (Tabelle 11).

5 Diskussion

Der in-vitro Teil konnte zeigen, dass die CT die maßgebliche Variable ist, die sich unter Anwesenheit eines DOAKs verändert. Standardthrombelastometrische Teste zeigen sich im Vergleich zu modifizierten Testen weniger sensitiv in der Detektion von Xa-Inhibitoren. Insbesondere die Detektion von Apixaban ist mit den Standardtesten erschwert.

Im in-vivo Teil konnten die in-vitro Ergebnisse in Wesentlichen bestätigt werden. Dabigatran ist das einzige OAK, dass eine Verlängerung der CT_{ECATEM} bewirkt.

Die gemessenen Anti-Xa-Aktivitäten korrelieren sehr gut mit der CT_{EXTEM} , CT_{FIBTEM} und CT_{TFTEM} . Unter den Xa-Inhibitoren weist auch hier Apixaban die schwächste Korrelation mit der CT auf. Die Anti-IIa-Aktivitäten dahingegen korrelieren ausschließlich und sehr gut mit der CT_{ECATEM} .

Die Überprüfung des bestehenden Algorithmus zur Differenzierung zwischen den einzelnen OAKs ergab eine korrekte Zuordnung für die DOAKs von 81% und für alle OAKs (inklusive VKA) von 71%.

Im Folgenden werden die aufgestellten Hypothesen diskutiert.

5.1 Hypothese 1

Die mittels ROTEM® gemessene Clotting Time (CT) im TFTEM korreliert mit der Anti-Xa-Aktivität von Apixaban beziehungsweise Edoxaban in-vitro.

Die Auswertung der in-vitro Daten (Dosis-Wirkungskurven) zeigt, dass Apixaban erst bei höheren Plasmakonzentrationen (250 ng/ml und höher) zu einem signifikanten Anstieg der CT im EXTEM, FIBTEM und HEPTTEM führt.

Das Monitoring von Apixaban via Thrombelastometrie mit den Standardtesten (EXTEM, FIBTEM, HEPTTEM) ist demnach weniger geeignet, da sich die CT erst im Bereich höherer Konzentrationen verlängert. Klinisch wirksame Plasmakonzentrationen sind aber bereits unter diesen Werten zu erwarten und werden daher nicht detektiert.

Edoxaban hingegen führt bereits in niedrigen Konzentrationen (ab 31,25 ng/ml) zu einer signifikanten Verlängerung der CT im EXTEM, FIBTEM und HEPTTEM, jedoch ohne den oberen Normbereich zu überschreiten.

Im TFTEM-Test, der aufgrund der geringeren eingesetzten Dosis von Gewebefaktor (TF) sensitiver auf das Vorhandensein von gerinnungsverändernden Substanzen reagiert, verlängert sich die CT bereits bei niedrigeren Konzentrationen deutlicher: Die CT_{TFTEM}

Diskussion

verlängert sich ab Konzentrationen von 125 ng/ml für Apixaban und ab Konzentrationen von 31,25 ng/ml für Edoxaban hoch signifikant. Die CT_{TFTEM} erscheint damit sensitiver für niedrige Anti-Xa-Aktivitäten bzw. Plasmakonzentrationen der beiden untersuchten DOAKs.

Die CT_{TFTEM} korreliert zudem sehr gut mit den substanzspezifischen Anti-Xa-Aktivitäten (Apixaban: $r = 0,9085$; $p < 0,0001$; Edoxaban: $r = 0,9415$; $p < 0,001$).

Die Ergebnisse bestätigen damit die vorangestellte Hypothese.

Im Folgenden sollen weitere Studien vorgestellt werden, die den Einfluss von DOAKs auf standardthrombelastometrische Variablen untersucht haben und deren Bezug zu der vorliegenden Arbeit hergestellt werden.

So haben Seyve et. al den Einfluss von DOAKs auf die CT, CFT, alpha-Winkel und MCF in den Standard-ROTEM®-Testen EXTEM, FIBTEM und INTEM in einer in-vitro Verdünnungsreihe ($n = 20$; $n = 5$ je DOAK) untersucht (68). Die Plasmakonzentrationen der DOAKs wurden mit für die Substanzen kalibrierten chromogenen Messverfahren bestimmt. Es konnte ein linearer Zusammenhang zwischen der CT_{EXTEM} beziehungsweise CT_{INTEM} und der DOAK-Plasmakonzentration gezeigt werden. Hier korrelierten die CT_{EXTEM} mit der Plasmakonzentration (Anti-Xa- bzw. IIa-Aktivität) mit $R^2 = 0,7$ (Apixaban), $R^2 = 0,94$ (Edoxaban), $R^2 = 0,96$ (Rivaroxaban) und $R^2 = 0,97$ (Dabigatran). Für die CT_{INTEM} ergeben sich in diesem Zusammenhang $R^2 = 0,77$ (Apixaban), $R^2 = 0,92$ (Edoxaban), $R^2 = 0,86$ (Rivaroxaban) und $R^2 = 0,93$ (Dabigatran). Die CT_{INTEM} reagiert im Vergleich zur CT_{EXTEM} weniger sensitiv auf das Vorhandensein eines DOAKs. Apixaban zeigt im Vergleich zu den anderen DOAKs nur wenige Veränderungen in den thrombelastometrischen Testen und diese erst bei höheren Plasmakonzentrationen (CT_{EXTEM} Verlängerung bei 5/5 Proben für Apixaban bei ca. 1000 ng/ml, für Edoxaban bei ca. 100 ng/ml, für Rivaroxaban und Dabigatran ca. 200 ng/ml). Es ergab sich kein signifikanter Einfluss auf die CFT, alpha-Winkel und MCF (68). Die Ergebnisse von Seyve et al. sind damit kongruent zu denen der vorliegenden Arbeit.

Auch Korpálová et al. untersuchten den Einfluss von DOAKs bei den standardthrombelastometrischen Testen EXTEM, FIBTEM und INTEM im ROTEM® Gamma, indem sie Blut von 45 Patienten unter DOAK-Therapie bei Vorhofflimmern (Apixaban, Rivaroxaban und Dabigatran) untersuchten (69): Alle DOAKs verlängerten die CT der Standard-ROTEM®-Teste signifikant im Vergleich zur Kontrollgruppe. Vergleicht man die CT-Verlängerung durch ein DOAK bei Minimal- vs.

Diskussion

Maximalplasmakonzentration ergibt sich lediglich bei Rivaroxaban (53.4 ± 18.6 ng/ml vs. 205.2 ± 42.5 ng/ml) ein signifikanter Anstieg der CT (69). Für Apixaban (126.8 ± 19.3 ng/ml vs. 202.9 ± 19.7 ng/ml) konnte kein konzentrationsabhängiger CT-Anstieg nachgewiesen werden. Des Weiteren konnte festgestellt werden, dass die MCF_{FIBTEM} durch Apixaban oder Dabigatran signifikant beeinflusst wird und die CFT_{INTEM} , MCF_{EXTEM} und MCF_{FIBTEM} durch Rivaroxaban signifikant verändert werden (69).

Auch im ClotPro®⁵, ebenso ein viskoelastometrisches Messverfahren, konnte für die Standardteste EX-test und IN-test gezeigt werden, dass direkte orale Antikoagulanzen die $CT_{EX-test}$ und $CT_{IN-test}$ beeinflussen, wohingegen andere Variablen keine signifikante Veränderung zeigen (45, 70).

Aufgrund der geringen Sensitivität der Standardteste wurden modifizierte Tests entwickelt, um DOAKs besser detektieren zu können.

Schäfer et al. haben den Einfluss von Rivaroxaban und Dabigatran auf die neuen thrombelastometrischen Tests TFTEM und ECATEM in einem in-vitro Studiendesign untersucht. Hier konnte gezeigt werden, dass die CT_{TFTEM} signifikant mit der Anti-Xa-Aktivität für Rivaroxaban korreliert ($r = 0.9363$; $p = 0.006$). Durch Zugabe von pegyliertem Fxa bzw. pegyliertem Flla zu den entsprechenden ROTEM®-Testen normalisierte sich die CT_{TFTEM} bzw. CT_{ECATEM} , sodass der Effekt auf die Variablen sicher auf die DOAKs zurückzuführen ist. Zudem wurde in einem ex-vivo Teil neurologischen Patienten unter Rivaroxaban- beziehungsweise Dabigatran-Therapie Blut zu vier verschiedenen Zeitpunkten abgenommen und thrombelastometrisch untersucht. Hier konnten die Ergebnisse des in-vitro Teils bestätigt werden (46).

Im Rahmen der RO-DOA Studie wurden 30 Patienten unter DOAK-Therapie (Apixaban, Rivaroxaban und Dabigatran, jeweils $n = 10$; Kontrollgruppe $n = 15$) bei nicht-valvulärem VHF eingeschlossen und deren Blut mittels standardthrombelastometrischen und modifizierten ROTEM®-Testen analysiert (71). Die Messungen wurden bei Plasmaspitzen- und -talspiegel durchgeführt. Im diluted EXTEM – einem modifizierten ROTEM®-Test, vergleichbar mit dem TFTEM – konnte für Apixaban und Rivaroxaban hier ebenso gezeigt werden, dass sich im Vergleich zur Kontrollgruppe die mittlere CT und CFT für Spitzen- und -talspiegel signifikant verlängert und der alpha Winkel signifikant flacher ist. Durch Zugabe von anti-Fxa-Catcher konnte die mittlere CT als auch die mittlere CFT signifikant verkürzt werden.

⁵ ClotPro®: PoC-Messgerät auf Basis von Viskoelastometrie. Bei der Analyse rotiert die Küvette bei fixiertem Stempel. Die testspezifischen Reagenzien befinden sich als Trockensubstanz in der Pipettenspitze. Es gibt 6 Testkanäle pro Gerät.

Diskussion

Auch Adelman et al. kommen zu dem Schluss, dass ein LowTF-ROTEM® (Low Tissue Factor activated ROTEM®, ~0.350 pmol/l TF-Konzentration), ein modifiziertes thrombelastometrisches Testverfahren, ein wertvolles diagnostisches Mittel für die Messung von Apixaban und Rivaroxaban darstellt (67). In einem in-vitro Experiment wird die CT im LowTF-Test durch Apixaban und Rivaroxaban signifikant verlängert. Es konnte eine gute Korrelation zwischen Apixaban bzw. Rivaroxaban Plasma-Konzentration und der CT im LowTF-Test gezeigt werden (Spearman Korrelationskoeffizient $r = 0,81$) (67).

Pailleret et al. haben die Detektion niedriger Plasmakonzentrationen der Xa-Inhibitoren Apixaban und Rivaroxaban ebenso via modifiziertem ROTEM®-Test, einem low-TF (5pmol/l) -Test mit angereichertem Phospholipid-Vesikeln, untersucht (72). Grundlage für das Studiendesign waren Thrombin Generation Assays (TGA) und Clot Waveform Analysen (CWA), die mit thrombozytenarmem Plasma sowie niedrigeren Mengen an Tissue Factor (TF) Gerinnung induzieren, so Xa-Inhibitoren bereits in Konzentrationsbereichen von 5 – 10 ng/ml detektieren können und daher deutlich sensitiver sind. Die Phospholipide behindern die Thrombozyten in ihrer Funktion (72). Es wurde Vollblut von 66 Patienten ($n = 30$ Rivaroxaban-Einnahme; $n = 17$ Apixaban-Einnahme; $n = 19$ Kontrolle) genutzt. Die Messungen ergaben, dass die CT der relevanteste Parameter für die Detektion von Xa-Inhibitoren darstellt. Im modifizierten ROTEM®-Test verlängerte sich die CT um das 1,4-fache bei einer Rivaroxaban Konzentration von 25 ng/ml ($p = 0,02$) und um das 1,6-fache bei Apixaban Konzentrationen von 25 ng/ml ($p < 0,0001$) (72). Es konnte außerdem demonstriert werden, dass weder der Fibrinogengehalt noch der aktive Thrombozyten-Anteil der Probe in Anwesenheit von Xa-Inhibitoren die CT signifikant beeinflusst.

Eine prospektive Observationstudie aus dem Jahr 2021 von Groene et al. untersuchte mittels ClotPro® die Detektion von OAK mittels Standardtesten (EX-test; IN-test) sowie modifizierten Testen (ECA-test⁶, RVV-test⁷, TPA-test⁸) bei 70 oral antikoagulierten (Apixaban, Edoxaban, Rivaroxaban, Dabigatran, Marcumar) oder heparinisierten (LMWH, UFH) Patienten (n jeweils = 10) (45, 70). Alle oralen Antikoagulanzen (DOAKS und VKA) mit Ausnahme von Apixaban verlängerten die $CT_{EX-test}$ signifikant. Ausgeprägtere Verlängerungen der CT zeigten sich dagegen im neuen RVV-test (russel' viper venom). Hier veränderten sowohl Xa-Inhibitoren als auch Dabigatran die CT

⁶ ECA-test: Ecarin-Test, bei der es zur direkten Aktivierung von Prothrombin kommt

⁷ RVV-test: Russel-Viperngift-Test. Induktion der Gerinnung durch direkte Aktivierung von Faktor X.

⁸ TPA-test: Tissue plasminogen activator test. Induktion der Gerinnung durch rekombinantes Gewebsthromboplastin und Aktivierung der Fibrinolyse durch r-tPA.

Diskussion

signifikant. Die Anti-Xa-Aktivität der DOAKs Apixaban, Edoxaban und Rivaroxaban korrelierte zudem gut mit der $CT_{RVV\text{-test}}$ ($r = 0.7998$; $p < 0.0001$). Auch für LMWH konnte eine Korrelation zwischen $CT_{RVV\text{-test}}$ und die gemessene Anti-Xa-Aktivität gefunden werden ($r = 0,6687$; $p = 0,0395$). Mit Hilfe des RVV-tests konnten Xa-Inhibitoren mit einer Sensitivität von 83% und Spezifität von 64% detektiert werden. Apixaban konnte mittels RVV-test besser detektiert werden als im EX-test (RVV-test vs. Kontrolle: 90% Sensitivität; 100% Spezifität; EX-test vs. Kontrolle: Sensitivität 80%, Spezifität 80%) (45). Es konnte demonstriert werden, dass sich ein modifizierter, spezifischerer Test, der auf der Aktivierung von Faktor X basiert, für die Detektion von Xa-Inhibitoren besser als die standardthrombelastometrischen Test eignet.

Zum gleichen Resultat kamen auch Oberladstätter et al., die im Rahmen einer Observationsstudie zur schnellen Detektion von DOAKs bei Trauma-Patienten die modifizierten ClotPro®-Teste ECA-test und RVV-test nutzten (48). In der Summe wurden $n = 57$ (Apixaban), $n =$ Edoxaban, $n = 50$ Rivaroxaban, $n = 66$ (Dabigatran) Blutproben analysiert. Mit Hilfe des RVV-tests konnte auch hier eine starke positive Korrelation zwischen $CT_{RVV\text{-test}}$ und der substanzspezifischen Anti-Xa-Aktivität nachgewiesen werden (Apixaban: $r = 0,791$; $p < 0,001$; Edoxaban: $r = 0,9251$; $p < 0,001$; Rivaroxaban: $r = 0,8792$; $p < 0,001$). Für die Detektion von DOAK-Plasmakonzentrationen ≥ 50 ng/ml mittels RVV-test ($CT_{RVV\text{-test}} \geq 100$ sec) konnte für Apixaban eine Sensitivität von 95% und Spezifität von 45%, für Edoxaban eine Sensitivität von 100% und Spezifität von 38% sowie für Rivaroxaban eine Sensitivität von 100% und Spezifität von 24% ermittelt werden (48).

Auch mit TEG®⁹, ein weiteres viskoelstometrisches Messinstrument, wurden die Einflüsse von DOAKs auf die entsprechenden Messvariablen untersucht (73).

So haben Dias et al. eine ex-vivo Verdünnungsreihe mit Apixaban, Rivaroxaban und Dabigatran erstellt und die Effekte von IIa-Inhibitoren (Dabigatran) und Xa-Inhibitoren (Apixaban und Rivaroxaban) mittels TEG®5000 analysiert. Hierbei kam der Standard-TEG®-Kaolin-Test¹⁰ sowie modifizierte Teste (RapidTEG®-Test¹¹; Kaolin-Test + Ecarin-Zusatz; rTEG®-Test + Ecarin) zum Einsatz. Im Kaolin-Test zeigte sich durch Apixaban (ab 250 ng/ml), Rivaroxaban (ab 89 ng/ml) und Dabigatran (ab 50 ng/ml) eine signifikante Verlängerung der Reaction Time (R-Zeit) im Vergleich zur Kontrolle. Die im

⁹ TEG®: Thrombelastographie (eingetragene Marke von Haemonetics Corporation), TEG®5000: Cup-Pin Prinzip (Rotation des Cups)

¹⁰ Kaolin-Test: Kaolin als Standard-TEG®-Reagenz aktiviert die intrinsische Gerinnung. Die gemessene Reaction Time (R) entspricht der Clotting Time (CT). Angabe R-Zeit in min.

¹¹ RapidTEG®-Test (rTEG®): Induktion der Gerinnung durch Kaolin und Tissue Factor. Durch den Zusatz von Tissue Factor wird die Gerinnungsinduktion beschleunigt. Die TEG®-ACT (Activated Clotting Time) wird gemessen und entspricht der Zeit bis zum Einsetzen der Gerinnungsbildung. Angabe der ACT in sec.

Diskussion

rTEG® gemessene ACT (entspricht der R-Zeit bzw. CT im ROTEM®) veränderte sich dosisabhängig durch Apixaban, Rivaroxaban und Dabigatran über die ACT-Normrange. Es konnte folglich demonstriert werden, dass der rTEG®-Test, welcher sowohl den intrinsischen als auch den extrinsischen Weg der Gerinnung aktiviert, die Sensitivität der Detektion der DOAKs erhöht (74). Es ist kritisch anzumerken, dass die Konzentrationsstufen wenig vergleichbar sind und sich die gewählten Apixaban-Konzentrationen vornehmlich im supratherapeutischen Bereich befinden (Apixaban: 250 – 500 – 1000 ng/ml; Rivaroxaban: 22 – 89 – 500 ng/ml; Dabigatran 50 – 200 – 500 ng/ml) (74).

Bliden et al. und Dias et al. haben jeweils mit dem weiterentwickelten TEG®6s¹² die Detektion von DOAKs mit modifizierten Testen evaluiert (75, 76). Sie nutzten einen AFXa (Anti-Faktor-Xa)-Assay, welcher die Gerinnung über Faktor Xa aktiviert, und einen DTI (Direkte Thrombininhibitor)-Assay, der Ecarin enthält. Auf Basis von Messergebnissen gesunder Probanden legten sie Normwerte fest und untersuchten die Veränderungen der R-Zeit bei Patienten unter DOAK-Therapie (75, 76).

Bliden et al. konnte zeigen, dass Xa-Inhibitoren zwar die Kaolin-R-Zeit, eine TEG®6s-Standardvariable, verlängern, sich allerdings insbesondere zur Detektion von Apixaban nicht ausreichend eignet, da eine Mehrzahl der Proben nicht als DOAK Probe erkannt wurde (75). Dies bestätigt auch die Erkenntnisse der vorliegenden Arbeit zu standardthrombelastometrischen Messergebnissen im ROTEM® delta bei Apixaban (1). Zudem konnten durch den Kaolin-Test 35% der Rivaroxaban-Proben sowie 22% der Dabigatran-Proben nicht detektiert werden. Dahingegen ließ sich mittels modifizierten AFXa-Assay die Sensitivität zur Detektion eines DOAKs (Apixaban, Rivaroxaban, Dabigatran) bei einem R-Zeit Cut-off von 1,95 min auf 92% erhöhen (bei einer Spezifität von 95%) (75). Eine Korrelation zwischen eingenommener DOAK-Dosis und R-Zeit in den modifizierten Testen konnte nicht gefunden werden. Bei bekannter hoher interindividueller pharmakologischer Variabilität erscheint dies nicht unplausibel (8, 27). Es wurden keine DOAK-Plasmakonzentrationen bestimmt, um diese mit den viskoelastometrischen Variablen zu korrelieren (75). Edoxaban als weiterer Xa-Inhibitor wurde bei noch fehlender Zulassung von der Arbeit nicht erfasst (75).

Dias et al. bestätigten wenige Jahre später den Nutzen der AFXa- sowie DTI-Testen zur Detektion und Differenzierung von DOAKs (76).

¹² TEG®6s: Messprinzip basierend auf Resonanztechnologie statt Cup-Pin-Prinzip. Die Blutprobe wird einer vorgegebenen Schwingungszahl ausgesetzt. Eine LED-Lichtquelle detektiert die zur Resonanz führenden Frequenz, die abhängig von der Gerinnungsfähigkeit ist.

Diskussion

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die vorgestellten Studien die Hypothese ebenso wie die vorliegenden in-vitro Ergebnisse stützen:

Neue bzw. modifizierte thrombelastometrische Teste eignen sich besser zur Detektion von Xa-Inhibitoren, da sie sensitiver (TFTEM; diluted EXTEM; LowTF-Test) und spezifischer (RVV-test) sind (45, 46, 67, 71, 72). Insbesondere die Detektion von Apixaban in therapeutischen Konzentrationen, welche Standardteste meist nicht erfassen, wird durch die neuen Teste erleichtert (1, 45, 75).

In andere standardthrombelastometrische Testen wie dem EXTEM oder INTEM (bzw. Kaolin-Test) zeigen sich unter Anwesenheit eines DOAKs im Wesentlichen Veränderungen der CT (bzw. R-Zeit) (45, 68, 69, 71, 75, 77, 78, 79).

5.2 Hypothese 2

Xa-Inhibitoren wie Apixaban und Edoxaban haben (im Gegensatz zu direkten Thrombininhibitoren) keinen Einfluss auf die CT im ECATEM.

Die Auswertung der in-vitro Daten ergibt, dass die CT_{ECATEM} nicht mit der Anti-Xa-Aktivität für Apixaban ($r = -0,2100$; $p = 0,1073$) und nicht mit der Anti-Xa-Aktivität für Edoxaban ($r = 0,0704$; $p = 0,593$) korreliert. Für die beiden Xa-Inhibitoren Apixaban und Edoxaban zeigt sich im ECATEM keine Veränderung der CT.

Im in-vivo Teil zeigt sich, dass Dabigatran als direkter IIa-Inhibitor die CT_{ECATEM} signifikant im Gegensatz zur Kontrollgruppe sowie allen anderen OAKs verlängert (CT_{ECATEM} Dabigatran: 191 s; (144/256); vs. Apixaban: 82 s; (74/89); $p < 0,0001$; vs. Edoxaban: 92 s; (84/99); $p < 0,0001$; vs. Rivaroxaban: 92 s; (85/101); $p < 0,0001$; vs. Marcumar: 86 s; (75/95); $p < 0,0001$).

Die Hypothese 2 kann damit bestätigt werden.

In einer Arbeit von Schäfer et al. konnte nach dem Erstellen von in-vitro Dosis-Wirkungs-Kurven für Dabigatran bestätigt werden, dass Dabigatran die CT_{ECATEM} bei jeder Konzentration signifikant verlängert, wohingegen sich unter dem Xa-Inhibitor Rivaroxaban keine Veränderung der CT_{ECATEM} zeigt. Die CT_{ECATEM} korreliert zudem signifikant mit der Anti-IIa-Aktivität für Dabigatran ($r = 0,9985$; $p < 0,001$). Dies konnte ebenfalls an in-vivo Proben bestätigt werden (46).

Auch Körber et al untersuchten in einer kleinen Studienpopulation ($n = 10$) die Möglichkeiten der PoC-Detektion von Dabigatran mittels ecarinbasiertem Test zu drei

Diskussion

verschiedenen Zeitpunkten nach der oralen Einnahme (Dabigatran Konzentrationen 0 - 305 ng/ml). In dieser Studie korrelierte die CT_{ECATEM} gut mit den Dabigatran-Plasmakonzentrationen (zwei Stunden nach Einnahme: $r = 0,9$; $p < 0,001$; sechs Stunden nach Einnahme: $r = 0,77$; $p = 0,009$, zwölf Stunden nach Einnahme: $r = 0,85$; $p = 0,002$) (64).

In der RO-DOA Studie wurde für $n = 10$ Patienten unter einer Dabigatran-Therapie ebenfalls ein ecarinbasierter ROTEM®-Test genutzt (ECATEM-B¹³). Zudem wurde in einem zweiten Schritt eine Messung der Probe mit zusätzlichem anti-IIa-Antagonist vorgenommen. Auch in Rahmen dieser Studie konnte für Dabigatran gezeigt werden, dass es im ecarinbasierten Test zu einer signifikanten Verlängerung der CT und CFT bei Plasmamaximal- und Plasmaminimalkonzentrationen kommt. Nach Zugabe des anti-IIa-Antagonisten verkürzten sich die CT signifikant, was beweist, dass der zuvor gemessene Effekt auf das Dabigatran zurückzuführen ist. Mittels ROC-Kurven-Analyse wurden Cut-off-Werte für das Vorliegen einer Dabigatrantherapie bestimmt. Diese lagen in der genannten Studie bei 125 s im ecarinbasierten Test. (71). Proben mit Xa-Inhibitoren wurden im Rahmend der RO-DOA Studie nicht getestet, sodass keine Aussage über die Spezifität des ecarinbasierten Tests gemacht werden kann.

In der Observationsstudie von Groene et al., in welcher die Detektion von DOAKs im ClotPro® untersucht wurde, kam ebenso ein ecarinbasierter Test (ECA-test) zum Einsatz. Lediglich Dabigatran verlängerte – im Gegensatz zu Xa-Inhibitoren oder VKA – im Vergleich zur Kontrollgruppe die $CT_{\text{ECA-test}}$ signifikant ($p < 0,0001$). Zudem korrelierte die $CT_{\text{ECA-test}}$ signifikant mit der Anti-IIa-Aktivität von Dabigatran ($r = 0,9970$; $p < 0,0001$). (45).

Oberladstätter et al. kamen in Bezug auf den ECA-test zu vergleichbaren Ergebnissen wie in der zuvor genannten Studie von Groene et al: Zum einen konnte eine starke Korrelation zwischen der $CT_{\text{ECA-test}}$ und der Anti-IIa-Aktivität gezeigt werden ($r = 0,9693$; $p < 0,001$), zum anderen konnte bestätigt werden, dass eine Verlängerung der $CT_{\text{ECA-test}} \geq 180$ s auf Dabigatran-Plasmakonzentrationen ≥ 50 ng/ml zurückzuführen ist. (Sensitivität 100%, Spezifität 95%). Die Einflüsse von Xa-Inhibitoren Apixaban, Edoxaban und Rivaroxaban auf die $CT_{\text{ECA-test}}$ werden nicht weiter aufgeführt (48).

Hinsichtlich der Spezifität der ecarinbasierten Testen konnten ebenso mit dem TEG®-System erfolgreiche Arbeiten durchgeführt werden. Xa-Inhibitoren zeigten im Kaolin-

¹³ ECATEM B: ROTEM®-Test, der Ecarin als direkten Prothrombinaktivator beinhaltet.

Diskussion

Test nach Zugabe von Ecarin keine signifikante Veränderung der R-Zeit im Vergleich zur Kontrolle (mit Ausnahme von teils sehr hohen supratherapeutischen Dosierungen: Rivaroxaban 500 ng/ml, Apixaban 1000 ng/ml) (74). Dias et al. konnten ebenfalls demonstrieren, dass die Xa-Inhibitoren (Apixaban, Edoxaban, Rivaroxaban) keine signifikante Veränderung der R-Zeit im ecarinbasierten Test im Vergleich zur Referenzgruppe bedingen, diese aber durch Dabigatran verlängert wird (74, 75, 76).

Folglich kann man zusammenfassen, dass alle aufgeführten Studien, die den Einfluss von DOAKs mit thrombelastometrischen Testen auf Ecarinbasis überprüften, zum Schluss kommen, dass es sich hierbei um einen für IIa-Inhibitoren (Dabigatran) spezifischen Test handelt. Sie bestätigen weiter die Hypothese, dass Xa-Inhibitoren im Ecarin-Test keine signifikante Veränderung der Clotting Time beziehungsweise R-Zeit bewirken (1, 45, 46, 48, 64, 71, 74, 75, 76).

5.3 Hypothese 3

Ein bereits erstellter thrombelastometrischer Algorithmus kann zwischen den Koagulopathien verursacht durch OAKs (Xa-Antagonisten, direkter Thrombininhibitor, VKA) und nicht vorhandenen Koagulopathien unterscheiden.

Die Zuordnung der gemessenen Proben durch den thrombelastometrischen Algorithmus konnte die Proben in etwas mehr als 70% der Fälle korrekt zuordnen. Dabei zeigten sich deutliche Unterschiede zwischen Koagulopathien hinsichtlich der korrekten Zuordnung.

IIa- Inhibitoren (Dabigatran) verlängern als einziges OAK die CT_{ECATEM} signifikant (Kontrolle: 92 s; (87,5/ 100) vs. IIa-Inhibitoren: 191 s; (144/ 246); $p < 0,0001$) und unterscheiden sie sich damit jeweils von den Xa-Inhibitoren und VKAs statistisch signifikant. Hierdurch gelang eine Zuordnung dieser Koagulopathie in sehr hohem Prozentsatz. Auch die Koagulopathie durch Xa-Inhibitoren konnte mit >80% richtig zugeordnet werden. Letztlich konnte VKA-Koagulopathie jedoch nur in ca. 30% der Fälle korrekt zugeordnet werden. Dies liegt vor allem an der im Vergleich zu den Xa-Inhibitoren ähnlichen Auswirkungen auf den EXTEM und TFTEM Test.

Einige wissenschaftliche Arbeiten konnten bereits eine Differenzierung zwischen Xa-Inhibitoren und IIa-Inhibitoren mit Hilfe modifizierter thrombelastometrischer Teste demonstrieren und wurden zum großen Teil bereits im Rahmen der Hypothesenprüfung 1 und 2 vorgestellt (45, 46, 48, 74, 75, 76). Insbesondere durch Hinzuziehen von Testen

Diskussion

auf Basis von Ecarin, gelingt eine Abgrenzung von Dabigatran zu Xa-Inhibitoren (1, 45, 46, 48, 64, 71, 74, 75, 76).

So weisen auch Erkenntnisse aus einer in-vitro Arbeit von Schäfer et al. auf die Möglichkeit zur Differenzierung zwischen IIa- und Xa-Inhibitoren hin (46). Mittels einer aus CT_{TFTEM} und CT_{ECATEM} gebildeten Ratio konnte sicher zwischen Rivaroxaban und Dabigatran bei einem Cut-off von 2,78 differenziert werden (Sensitivität/ Spezifität: 100%/ 100%) (46).

Groene et al. zeigten für die Messungen im ClotPro®, dass Xa-Inhibitoren mittels RVV-test mit einer Sensitivität von 83% und Spezifität von 64% detektiert werden können und mittels ECA-test sicher von Dabigatran unterschieden werden können (45).

Ein alternativer Algorithmus zur Detektion von DOAKs und Differenzierung zwischen direkten Thrombininhibitoren und direkten Xa-Inhibitoren mit Hilfe von modifizierten Cartridges für TEG®6s wurde 2019 ebenso von Dias et al. erstellt (76): Hier kamen AFXa (Anti-Faktor-Xa)-Assays sowie DTI (Direkte Thrombininhibitor)-Assays zur Anwendung. Da IIa-Inhibitoren einen späteren Angriffspunkt in der Gerinnungskaskade haben, beeinflussen alle DOAKs die R-Zeit in den AFXa-Assays. Eine Differenzierung soll durch den ergänzenden DTI Assay ermöglicht werden. In einer prospektiven Observations- und Validierungsstudie wurden zunächst die Normwerte für die Assays durch Messen von Blutproben gesunder und nicht antikoagulierter Probanden (n = 160) ermittelt. Für den AFXa-Assay ergaben sich daraus eine R-Zeit Norm von 0,6 – 1,5 min, für DTI Assays eine R-Zeit Norm von 1,6 – 2,5 min. Im nächsten Schritt wurde Blut von Patienten unter DOAK-Therapie (Apixaban n = 54, Edoxaban n = 4, Rivaroxaban n = 57, Dabigatran n = 75; Kontrolle n = 24) zu unterschiedlichen Einnahme-Zeitpunkten (mit zu erwarteter Plasmamaximal- und Plasmaminimalkonzentration) analysiert. Alle DOAKs haben im AFXa-Assay die R-Zeit über der Norm von 1,5 min verlängert (Xa-Inhibitoren: Mean = 3,09 min, 95%-CI: 2,94 - 3,25; Dabigatran: Mean = 2,97 min, 95%-CI: 2,63 - 3,30). Dabigatran verlängerte als einziges DOAK die R-Zeit im DTI-Assay (Mean = 4,21 min, 95%-CI: 3,89-4,54) (76). Zudem haben Dias et al. auf Basis ihrer Messergebnisse einen Algorithmus zur Differenzierung von Xa-Inhibitoren, Dabigatran und Kontrollen erstellt. Mit einer Sensitivität von 98,3% wurden Proben mit Xa-Inhibitoren detektiert, mit einer Sensitivität von 100% Dabigatran-Proben. Die Spezifität betrug 100% (76). Der Algorithmus ist in Abbildung 25 aufgeführt. Er ist im Vergleich weniger komplex, sieht allerdings auch keine weitere Differenzierung zu VKA vor. Eine Korrelation zur Plasmakonzentration bzw. der Anti-Xa-/Anti-IIa-Aktivität fand hier jedoch nicht statt.

Diskussion

Dennoch legt auch diese Arbeit nahe, dass die R-Zeit konzentrationsabhängig steigt (Plasmaspitzen- vs. Plasmaminimalkonzentration) (76).

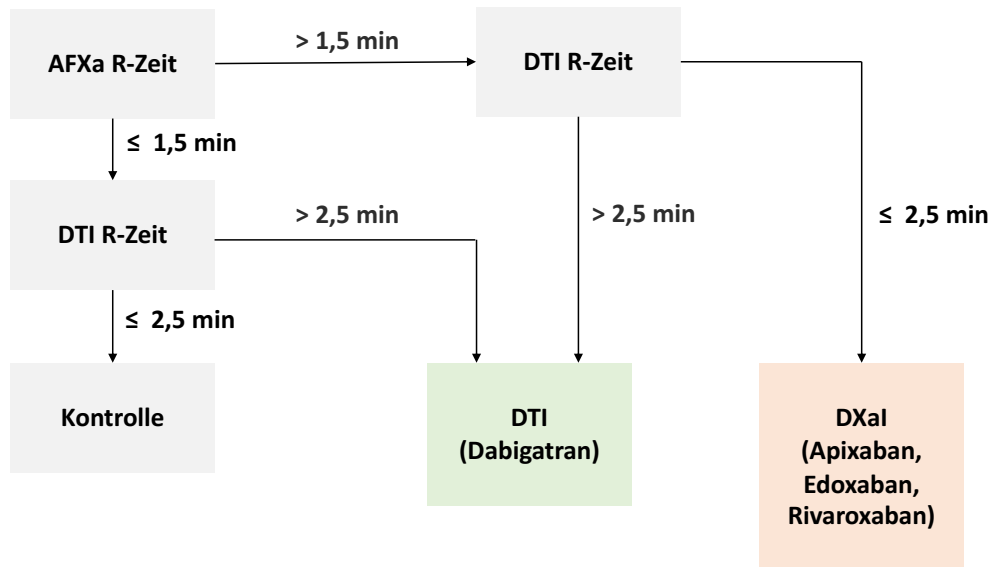


Abbildung 25: Alternativer Algorithmus mit TEG®6s unter Verwendung von AFXa- und DTI-Assays, übersetzt und modifiziert aus (76).

Auch Bliden et al. erstellten 2017 einen Algorithmus zur Unterscheidung von Xa-Inhibitoren (Apixaban, Rivaroxaban) und IIa-Inhibitoren für die PoC- Diagnostik unter Verwendung AFXa- und DTI-Assays im TEG®6s: Zunächst wurden gesunde ohne Einnahme von Antikoagulanzen untersucht (n = 26), um Referenzwerte für die beiden Assays festzulegen. Bei AFXa-Assay lag der Cut-off der CT bei 1,95 min, beim DTI-Assay lag er bei 1,9 min. Der Algorithmus ist dem von Dias et al. sehr ähnlich (siehe Abbildung 26). Es wird eine Sensitivität von $\geq 92\%$ und Spezifität von $\geq 95\%$ für die Detektion der untersuchten DOAKs angegeben (75).

Diskussion

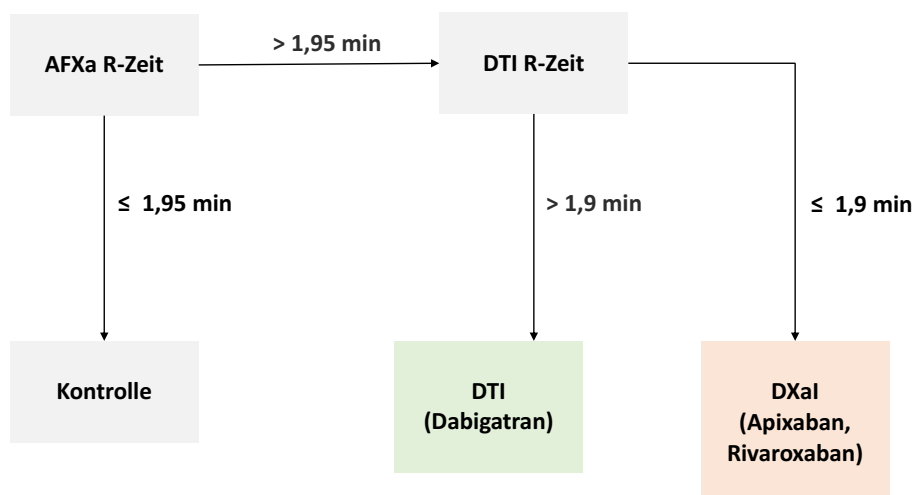


Abbildung 26: Alternativer Algorithmus mit TEG®6s unter Verwendung von AFXa- und DTI-Assays, übersetzt und modifiziert aus (75)

Vielen bisher vorgestellten Studiendesigns ist gemein, dass sie die Gruppe der VKA bei der Detektion oder Differenzierung von oralen Antikoagulanzen nicht erfassen.

VKA haben insbesondere auf die thrombelastometrischen Tests, die eine Clotbildung über die extrinsische Gerinnungsaktivierung induzieren (EXTEM, FIBTEM), Einfluss und zeigen Veränderungen der CT im EXTEM und FIBTEM mit moderater Korrelation zur PT (80, 81). Einflüsse von VKA (Marcumar) oder Nicht-Oralen Antikoagulanzen (UFH, LMWH) auf thrombelastometrische Variablen im ClotPro® wurde durch Groene et al. beschrieben und ergab, dass VKA die $CT_{EX-test}$ und $CT_{TPA-test}$ signifikant verlängern, wohingegen UFH die $CT_{IN-test}$ und $CT_{RVV-test}$ signifikant beeinflussen. LMWH dagegen zeigten keinen Effekt auf die CT (45).

Eine Differenzierung zwischen den einzelnen oralen Antikoagulanzen (Xa-Inhibitoren, IIa-Inhibitoren, VKA), die verschiedene thrombelastometrische Muster erzeugen und dies abhängig von der Plasmakonzentration, ist komplex und ist mit einzelnen Tests kaum möglich. Eine Unterscheidung zwischen zwei Gruppen ist meist möglich, insbesondere zwischen den Xa-Inhibitoren und IIa-Inhibitoren, wie in den oben genannten Studien mehrfach gezeigt wurde. Die Unterscheidung zwischen den diversen Koagulopathien ist für den klinischen Alltag jedoch in kritischen Situationen relevant und bedingt unterschiedliche therapeutische Strategien. Daher ist es hilfreich durch die

Diskussion

Kombination verschiedener thrombelastometrischer Teste und der vielen verschiedenen Variablen eine Entscheidungshilfe zu etablieren, die den Kliniker unterstützen kann.

Hierzu wurde bereits im Rahmen einer prospektiven Observationsstudie aus dem Jahr 2021 durch Schäfer et al. ein erster Algorithmus zur PoC-Diagnostik (ROTEM®) erstellt (siehe Abbildung 24)(47). 50 Patienten unter einer (D)OAK-Therapie (Apixaban, Edoxaban, Rivaroxaban, Dabigatran, Marcumar, jeweils n = 10) sowie 20 gesunden Probanden wurde Blut entnommen und thrombelastometrisch analysiert. Ein Teil der Blutproben der gesunden Probanden wurde weiter verdünnt, um eine Dilutionskoagulopathie zu simulieren. Aufgrund der limitierten Anzahl der Testkanäle pro Messgerät wurde die Zahl der verwendeten Teste auf vier begrenzt. Dies ist auch der Grund, warum in dieser Arbeit die CT im FIBTEM - die im klinischen Alltag bisher eine untergeordnete Rolle spielt - betrachtet wird.

Durch Erweiterung der standardthrombelastometrischen Teste um ECATEM und TFTEM sowie der Kombination verschiedener thrombelastometrischer Variablen konnte eine gute Differenzierung zwischen Kontrollgruppe, Dilutionsgruppe und der OAK-Gruppe ermöglicht werden (47).

Zudem konnte zwischen Xa-Inhibitoren und IIa-Inhibitoren/ VKAs mittels CT_{TFTEM} und CT_{TFTEM} / CT_{ECATEM} unterschieden werden (47).

Die Differenzierung von VKA zu Xa- und IIa-Inhibitoren erwies sich bereits bei Schäfer et al. als schwierig, was sich bei der Überprüfung mit den Proben aus dieser Studie erneut zeigte (VKA-Zuordnung nur in ca. 30%). Die Proben dieser Gruppen wurden zumeist der Gruppe der Xa-Inhibitoren zugeordnet. Die Schwierigkeit der Differenzierung von Xa-Inhibitoren und VKA liegt vermutlich in der zum Teil gleichen Inhibition von Gerinnungsfaktoren (FX) begründet. Dies führt zu ähnlichen Veränderungen in den thrombelastometrischen Testen und stellt damit aktuell die Hauptlimitation des erarbeiteten Algorithmus dar. Hinsichtlich einer spezifischen antagonisierenden Therapie bei Blutung oder vor/bei dringlichen Interventionen ist diese Unterscheidung jedoch wichtig, da unterschiedliche zugelassene Präparate zur Antagonisierung von Xa-Inhibitoren (Andexanet alfa) bzw. VKA (PPSB) zur Verfügung stehen (49, 50, 51). Auch wenn noch immer in einigen klinischen Situationen heutzutage PPSB in beiden Fällen (Marcumartherapie und DOAK-Therapie) verabreicht wird, ist die Antagonisierung von Xa-Inhibitoren mit PPSB außerhalb der eigentlichen Zulassung dieser Präparate. Zudem zeigen aktuelle Studien in neurochirurgischen Kollektiven eine Überlegenheit des Andexanet alfa (49, 82, 83, 84).

Diskussion

Hier bedarf es also weiterer Forschung hinsichtlich der Möglichkeit von spezifischeren Testen und der damit möglichen Differenzierung der beiden Koagulopathien verursacht durch Vitamin-K-Antagonisten und Xa-Inhibitoren.

5.4 Limitationen

In-vitro: Die Erstellung von Dosis-Wirkungskurven von Apixaban und Edoxaban sind auf Basis von Spiken der entsprechenden DOAKs in in-vitro Blutproben erfolgt. Dieses Vorgehen ist zunächst wichtig, um unter kontrollierten Bedingungen den singulären Einfluss des Antikoagulanzen zu testen. Es bedarf aber weiterer Versuchsreihen mit Patientenproben, um die erhaltenen Erkenntnisse zu validieren.

In-vivo: Die in-vivo Messungen stellen ein realistisches Abbild des alltäglichen klinischen Arbeitens dar, da die Patienten unabhängig von anderen Maßnahmen und der Einnahme antikoagulatorischer Therapien untersucht wurden. Dies stellt aber sogleich eine Limitation dar, da durch dieses Vorgehen nicht alle Konzentrationsbereiche der verschiedenen Antikoagulanzen erfasst wurden. Die Probenanzahl für die verschiedenen Konzentrationsbereiche ist daher klein. Hier sind weitere Proben notwendig, um die Aussagekraft hinsichtlich der verschiedenen thrombelastometrischen Muster zu erhöhen. Dies gilt ebenfalls für die Erstellung und weitere Optimierung eines Algorithmus zur Unterstützung der Erkennung und Differenzierung verschiedener Koagulopathien. Real-Life-Daten sind anfälliger für Ausreißer bei den Messergebnissen. In der Arbeit fielen zwei Ausreißer bei den CT-Messungen für die Dabigatran-Subgruppe auf, die durch Verwendung geeigneter statistischer Lage- und Streumaße für die Gesamtinterpretation der Ergebnisse jedoch nicht ins Gewicht fallen. Bei Betrachten der übrigen Messvariablen kann in dem einen Fall am ehesten von einer nicht durch Dabigatran hervorgerufenen Störung des intrinsischen, in dem zweiten Fall von einer Störung des extrinsischen Gerinnungssystems ausgegangen werden.

6 Zusammenfassung

Die Detektion verschiedener Koagulopathien, insbesondere derer durch die direkten oralen Antikoagulanzen ist durch thrombelastometrische Tests gut möglich. Mit der Einführung neuer Tests können die Xa-Inhibitoren sensitiver erfasst werden. Die Anti-Xa-Aktivität korreliert gut mit der Clotting Time des TFTEM. Ecarinbasierte Tests sind sehr sensitiv und spezifisch für direkte Thrombininhibitoren und korrelieren gut mit der Anti-IIa-Aktivität. Eine Differenzierung zwischen IIa-Inhibitoren und Xa-Inhibitoren mit den neuen Tests TFTEM und ECATEM gelingt bereits gut, was durch diese sowie andere Studien demonstriert wird (45, 46, 75, 76).

Mittels thrombelastometrischem Algorithmus lassen sich verschiedene Koagulopathien und Patienten ohne Gerinnungsstörung differenzieren. Es besteht aber die Schwierigkeit Vitamin-K-Antagonisten von direkten Faktor-Xa-Inhibitoren zu differenzieren. (47).

Eine sichere Detektion und Differenzierung von Koagulopathien und Antikoagulanzen im Detail erfordert folglich eine Weiterentwicklung des Algorithmus auf Basis von weiteren Messdaten und möglicherweise die Zuhilfenahme von weiteren modifizierten Tests, die sensitiv und allem voran spezifisch für VKA sind.

Abstract

The detection of various coagulopathies, especially those caused by direct oral anticoagulants, is easily possible with thrombelastometric tests. With the introduction of new tests Xa-inhibitors can be detected more sensitively. The anti-Xa-activity correlates well with the clotting time of the TFTEM. Ecarin-based tests are very sensitive and specific for direct thrombin inhibitors and correlate well with anti-IIa-activity. Differentiation between IIa-inhibitors and Xa-inhibitors with the new TFTEM and ECATEM tests is already successful, as demonstrated by these and other studies (45, 46, 75, 76).

Using a thrombelastometric algorithm various coagulopathies and patients without coagulation disorders can be differentiated.

However, there is the difficulty to differentiate vitamin-K-antagonists from Xa-inhibitors. (47). Reliable detection and differentiation of coagulopathies and anticoagulants requires further development of the algorithm based on additional modified tests that are sensitive and, above all, specific for VKA.

7 Abkürzungsverzeichnis

ACE	Angiotensin Converting Enzyme
aPTT	aktivierte partielle Thromboplastinzeit
Aqua dest.	Aqua destillata
ASA	American Society of Anaesthesiology
ASS	Acetylsalicylsäure
AT1	Angiotensin-1
BE	Blutentnahme
BMI	Body Mass Index
CFT	Clotting Formation Time
CT	Clotting Time
DMSO	Dimethylsulfoxid
(D)OAK	(Direktes) orales Antikoagulanz
DT	Decision Tree
DTI	Direkter Thrombininhibitor
DXaI	Direkter Xa-Inhibitor
ECT	Ecarin Clotting Time
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
ICSH	International Council for Standardization in Haematology
INR	International Normalized Ratio
IQR	Interquartil-Abstand
LI	Lysis Index
LMWH	Low molecular weight Heparin
LOT	Lysis Onset Time
MCF	Maximum Clot Firmness
MCH	Mittleres Korpuskuläres Hämoglobin
MCHC	Mittlere Korpuskuläre Hämoglobinkonzentration
MCV	Mittleres Korpuskuläres Volumen
ML	Maximum Lysis
NSAR	Nicht Steroidale Antirheumatika
PoC	Point-of-Care
PPI	Protonenpumpeninhibitor
PPSB	Prothrombinkonzentrat
PT	Prothrombinzeit
RVV	Russel Viper Venom
TAT	Turn-Around-Time
TF	Tissue Factor

Abkürzungsverzeichnis

TGA	Thrombin Generation Assay
TZ	Thrombinzeit
UFH	Unfraktioniertes Heparin
VKA	Vitamin-K-Antagonist

8 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Ausschnitt der Gerinnungskaskade und Angriffspunkt verschiedener Antikoagulanzen.....	8
Abbildung 2: Absorption, Metabolismus, Exkretion der DOAKs.....	12
Abbildung 3: Funktionsprinzip ROTEM®.....	23
Abbildung 4: Standardparameter des Thrombelastogramms.....	24
Abbildung 5: In vitro Dosis-Wirkungskurve für die Clotting Time (CT) bei steigenden DOAK-Konzentrationen (ng/ml) von Apixaban bzw. Edoxaban für den thrombelastometrischen Test EXTEM.....	29
Abbildung 6: In vitro Dosis-Wirkungskurve für die Clotting Time (CT) bei steigenden DOAK-Konzentrationen (ng/ml) von Apixaban bzw. Edoxaban für den thrombelastometrischen Test FIBTEM.....	30
Abbildung 7: In vitro Dosis-Wirkungskurve für die Clotting Time (CT) bei steigenden DOAK-Konzentrationen (ng/ml) von Apixaban bzw. Edoxaban für den thrombelastometrischen Test HEPTM.....	31
Abbildung 8: In vitro Dosis-Wirkungskurve für die Clotting Time (CT) bei steigenden DOAK-Konzentrationen (ng/ml) von Apixaban bzw. Edoxaban für den thrombelastometrischen Test NATEM.....	32
Abbildung 9: In vitro Dosis-Wirkungskurve für die Clotting Time (CT) bei steigenden DOAK-Konzentrationen (ng/ml) von Apixaban bzw. Edoxaban für den thrombelastometrischen Test ECATE.....	33
Abbildung 10: In vitro Dosis-Wirkungskurve für die Clotting Time (CT) bei steigenden DOAK-Konzentrationen (ng/ml) von Apixaban bzw. Edoxaban für den thrombelastometrischen Test TFTEM.....	34
Abbildung 11: In vitro Dosis-Wirkungskurve für die Ratio aus CT_{TFTEM} und CT_{ECATEM} bei steigenden DOAK-Konzentrationen (ng/ml) von Apixaban bzw. Edoxaban.....	35
Abbildung 12: Thrombelastometrische Ergebnisse für CT_{EXTEM} der Kontrollgruppe und den anderen OAK-Subgruppen.....	42
Abbildung 13: Thrombelastometrische Ergebnisse für CT_{FIBTEM} der Kontrollgruppe und den anderen OAK-Subgruppen.....	43
Abbildung 14: Thrombelastometrische Ergebnisse für CT_{HEPTM} der Kontrollgruppe und den anderen OAK-Subgruppen.....	44
Abbildung 15: Thrombelastometrische Ergebnisse für CT_{NATEM} der Kontrollgruppe und den anderen OAK-Subgruppen.....	45
Abbildung 16: Thrombelastometrische Ergebnisse für CT_{ECATEM} der Kontrollgruppe und den anderen OAK-Subgruppen.....	46
Abbildung 17: Thrombelastometrische Ergebnisse für CT_{TFTEM} der Kontrollgruppe und den anderen OAK-Subgruppen.....	47

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 18: Thrombelastometrische Ergebnisse für CT_{EXTM} der Kontrollgruppe, VKA (Marcumar), IIa-Inhibitoren (Dabigatran) und Xa-Inhibitoren (Apixaban, Edoxaban, Rivaroxaban).....	48
Abbildung 19: Thrombelastometrische Ergebnisse für CT_{FIBTEM} der Kontrollgruppe, VKA (Marcumar), IIa-Inhibitoren (Dabigatran) und Xa-Inhibitoren (Apixaban, Edoxaban, Rivaroxaban).....	49
Abbildung 20: Thrombelastometrische Ergebnisse für CT_{HEPTEM} der Kontrollgruppe, VKA (Marcumar), IIa-Inhibitoren (Dabigatran) und Xa-Inhibitoren (Apixaban, Edoxaban, Rivaroxaban).....	50
Abbildung 21: Thrombelastometrische Ergebnisse für CT_{NATEM} der Kontrollgruppe, VKA (Marcumar), IIa-Inhibitoren (Dabigatran) und Xa-Inhibitoren (Apixaban, Edoxaban, Rivaroxaban).....	51
Abbildung 22: Thrombelastometrische Ergebnisse für CT_{ECATEM} der Kontrollgruppe, VKA (Marcumar), IIa-Inhibitoren (Dabigatran) und Xa-Inhibitoren (Apixaban, Edoxaban, Rivaroxaban).....	52
Abbildung 23: Thrombelastometrische Ergebnisse für CT_{TFTEM} der Kontrollgruppe, VKA (Marcumar), IIa-Inhibitoren (Dabigatran) und Xa-Inhibitoren (Apixaban, Edoxaban, Rivaroxaban).....	53
Abbildung 24: Entscheidungsbaum bestehend aus Parametern verschiedener thrombelastometrischer Tests (FIBTEM, HEPTEM, ECATEM, TFTEM).....	57
Abbildung 25: Alternativer Algorithmus mit TEG®6s unter Verwendung von AFXa- und DTI-Assays.....	69
Abbildung 26: Alternativer Algorithmus mit TEG®6s unter Verwendung von AFXa- und DTI-Assays.....	70

9 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Absorption und Metabolismus verschiedener DOAKs.....	11
Tabelle 2: Mischungsverhältnisse für das Erstellen einer DOAK-Verdünnungsreihe...21	
Tabelle 3: Probandencharakteristika.....	28
Tabelle 4: Thrombelastometrische Variablen der Dosis-Wirkungskurven für Apixaban.....	36
Tabelle 5: Thrombelastometrische Variablen der Dosis-Wirkungskurven für Edoxaban.....	37
Tabelle 6: Patientencharakteristika.....	39
Tabelle 7: Thrombelastometrische Variablen CT, CFT, A5, A10 und MCF für die einzelnen Subgruppen.....	54
Tabelle 8: Substanzspezifische Anti-Xa- bzw. -IIa-Aktivitäten der ausgewerteten in-vivo Proben (Gesamtübersicht).....	55
Tabelle 9: Korrelation Anti-Xa- bzw. Anti-IIa-Aktivität mit der Clotting Time verschiedener thrombelastometrischer Teste.....	56
Tabelle 10: Klassifikationstabelle der Messergebnisse auf Basis des bestehenden Algorithmus.....	58
Tabelle 11: Klassifikationstabelle für die DXaI-Subgruppen Apixaban, Edoxaban und Rivaroxaban.....	58
Tabelle 12: Übersicht der Messverfahren der erhobenen Daten in der Laboratoriumsmedizin in Großhadern (LMU).....	79

Materialliste

10 Materialliste

Im Folgenden finden sich alle Messinstrumente, die für die Erhebung der Daten genutzt wurden, sowie eine Aufstellung der verwendeten Software, Materialien und Reagenzien.

10.1 Software

GraphPad Prism 9.5.1 (GraphPad Software, San Diego, USA)
 Microsoft Word für Mac (Microsoft Corporation, Redmond, USA)
 Microsoft Word für Windows (Microsoft Corporation, Redmond, USA)
 Microsoft Excel für Mac (Microsoft Corporation, Redmond, USA)
 Microsoft Excel für Windows (Microsoft Corporation, Redmond, USA)
 EndNote™ 20.5 (Clarivate Analytics, Philadelphia (Pennsylvania), USA und London, UK)

10.2 Klinische Messgeräte

Infinity® M540 Monitoring (Dräger Inc., Lübeck, Deutschland)
 ROTEM® delta SN: 3757 (Werfen GmbH, München, Deutschland)
 ROTEM® delta SN: 4283 (Werfen GmbH, München, Deutschland)
 ROTEM® delta SN: 4192 (Werfen GmbH, München, Deutschland)
 ROTEM® delta SN: 4085 (Werfen GmbH, München, Deutschland)

Tabelle 12: Übersicht der Messverfahren der erhobenen Daten in der Laboratoriumsmedizin in Großhadern (LMU)(32).

<u>Parameter</u>	<u>Geräte-system</u>	<u>Testverfahren</u>	<u>Verwendete Reagenzien</u>
Kleines Blutbild	XN 1000 (Sysmex) / XN 9000 (Sysmex)	<u>Leukozyten</u> : Durchflusszytometrie <u>Erythrozyten</u> : Impedanzmessung mit hydrodynamischer Fokussierung <u>Hämoglobin</u> : SLS-Hämoglobinmethode <u>Hämatokrit</u> : Kumulative Impulshöhensummierung <u>MCV</u> : Impedanzmessung mit hydrodynamischer Fokussierung, kumulative Impulshöhensummierung, Berechnung aus RBC und HCT <u>MCH</u> : Impedanzmessung mit hydrodynamischer Fokussierung, SLS Hämoglobinmethode, Berechnung aus RBC und HGB <u>MCHC</u> : Impedanzmessung mit hydrodynamischer Fokussierung, kumulative Impulshöhensummierung, SLS Hämoglobinmethode, Berechnung aus HGB und HCT <u>Thrombozyten</u> : Impedanzmessung mit hydrodynamischer Fokussierung, Fluoreszenz-Durchflusszytometrie <u>IPF</u> : Fluoreszenz-Durchflusszytometrie <u>RDW-CV, PDW, MPV</u> : Impedanzmessung mit hydrodynamischer Fokussierung <u>Normoblasten</u> : Fluoreszenz-Durchflusszytometrie	SULFOLYSER Lysercell WNR Lysercell WDF Fluorocell WNR Fluorocell WDF Fluorocell PLT Fluorocell RET CELLPACK DCL CELLPACK DFL CELLCLEAN
Quick-Wert + INR	Atellica COAG 360	Optische Koagulometrie: Durch Inkubation von Plasma mit der optimalen Menge Thromboplastin und Calcium wird der Gerinnungsvorgang ausgelöst; die Zeit bis zur Bildung des Fibringerinnsels wird gemessen.	Thromborel S (Siemens)

Materialliste

aPTT Lupus	Atellica COAG 360	Optische Koagulometrie: Inkubation von Plasma mit der optimalen Menge an Phospholipiden und einem Oberflächenaktivator führt zur Aktivierung von Faktoren des endogenen Gerinnungssystems. Durch Zugabe von Calcium-Ionen wird der Gerinnungsvorgang ausgelöst; gemessen wird die Zeit bis zur Bildung eines Fibringerinnsels.	Dade Actin FSL CaCl ₂ Solution
Fibrinogen (Claus)	Atellica COAG 360	Optische Koagulometrie: Citrat-Plasma wird mit einem großen Überschuss an Thrombin zur Gerinnung gebracht. Die Gerinnungszeit hängt hierbei weitgehend vom Fibrinogengehalt der Probe ab (Fibrinogen nach Claus).	Dade Thrombin Reagent OV Buffer
Thrombinzeit	Atellica COAG 360	Thrombin wandelt das in der Plasmaprobe enthaltene Fibrinogen in Fibrin um, wodurch ein Gerinnsel entsteht. Es wird die Zeit bis zur Gerinnselbildung gemessen.	Test Thrombin Reagent OV Buffer
Harnstoff	Cobas 8000/ c702 (Roche)	Kinetischer UV-Test	UREAL (Roche) Diluent NaCl 9% (Roche)
Kreatinin	Cobas 8000/ c702 (Roche)	Kinetischer Farbstest, basierend auf der Jaffé-Methode	CREJ2 (Roche) Diluent NaCl 9% (Roche)
Albumin	Cobas 8000 c702 (Roche)	Photometrischer Farbstest mit Bromcresolgrün	ALB2 (Roche) Diluent NaCl 9% (Roche)
Anti-Xa-Aktiv. (Edoxaban)	Atellica COAG 360	Chromogenes Messprinzip: Faktor Xa (FXa) wird zu einer Mischung von unverdünntem Plasma und dem chromogenen Substrat S-2732 gegeben. Bei der Bildung des Komplexes aus Heparin und Antithrombin (AT) finden gleichzeitig zwei kompetitive Reaktionen statt: 1. Factor Xa wird durch den Komplex (AT+Heparin) inhibiert. 2. Factor Xa spaltet von dem chromogen Substrat S-2732 p-Nitroanilin(pNA) ab. Die bei 405nm gemessene pNA Freisetzung ist umgekehrt proportional zur Heparinaktivität, umgekehrt proportional zur Heparinaktivität in der Plasmaprobe. Um den Einfluss von Heparinantagonisten wie z.B. Plättchenfaktor 4 (PF4) zu minimieren, enthält das Reaktionsgemisch Dextransulfat.	COAMATIC Heparin (Chromogenix) OV Buffer
Anti-Xa-Aktiv. (Rivaroxaban)	Atellica COAG 360	Plasma wird mit einem chromogenen Substrat inkubiert. Anschließend wird Faktor Xa im Überschuss zugegeben. Das Rivaroxaban im Patientenplasma inhibiert direkt den Faktor Xa. Das chromogene Substrat wird von dem nicht inhibierten Faktor Xa gespalten. Die Extinktion des entstandenen Farbstoffs wird gemessen und ist indirekt proportional zur Heparinaktivität.	COAMATIC Heparin (Chromogenix) OV Buffer
Anti-IIa-Aktiv. (Dabigatran)	Atellica COAG 360	Es handelt sich um eine chromogene Anti-IIa-Methode, die spezifisch für Direkte Thrombin-Inhibitoren und insensitiv auf Heparine (UFH und LMWH) reagiert, dabei wird der in Überschuss zugesetztes Thrombin (FIIa) durch die in der Probe enthaltene DTIs (Direkte Thrombin-Inhibitoren) gehemmt. Das verbleibende Thrombin hydrolysiert daraufhin das Thrombin-spezifische chromogene Substrat (CS-01(81)) und setzt dabei den Farbstoff para-Nitroanilin (pNA) frei. Die Menge des freigesetzten pNA ist damit umgekehrt proportional zur DTI-Konzentration in der Probe.	BIOPHEN DTI OV Buffer
Anti-Xa-Aktiv. (Apixaban)	Atellica COAG 360	Plasma wird mit einem chromogenen Substrat inkubiert. Anschließend wird Faktor Xa im Überschuss zugegeben. Das Apixaban im Patientenplasma inhibiert direkt den Faktor Xa. Das chromogene Substrat wird von dem nicht inhibierten Faktor Xa gespalten. Die Extinktion des entstandenen Farbstoffs wird gemessen und ist indirekt proportional zur Heparinaktivität	COAMATIC Heparin (Chromogenix) OV Buffer

10.3 Laborgeräte

Zentrifuge 5417R (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland)

Zentrifuge 5430R (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland)

IKA® Dry Block Heater 3 (IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Deutschland)

Materialliste

LEICA Stereozoom S9i, SN: 1121150028 (Leica Microsystems CMS GmbH, Wetzlar, Deutschland)

Tiefkühlschrank Thermo Scientific ID-Nr.: G-720886 (Thermo Electron LED GmbH, Langenselbold, Deutschland)

10.4 Laborbedarf

Pipette eppendorf Research plus 0,5 - 5 ml, R44492F

Pipette eppendorf Research plus 100 - 1000 ul, G53344K

Pipette eppendorf Reference 2 100 - 1000 ul, L41991E

Pipette eppendorf Research plus 10 - 100 ul, H28669K

Pipette eppendorf Reference 10 - 100 ul, 4453691

Pipette eppendorf Research plus 0,5 - 10 ul, G15313K

Pipette eppendorf Research plus 0,1 - 2,5 ul, G53094J

Pipettenspitze Filter tip 1000 ul (Sarstedt AG & Co.KG, Nümbrecht, Deutschland)

Pipettenspitze ep Dualfilter T.I.P.S. ® 0,1 - 5ml (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland)

Pipettenspitze Pipette tip 1000 ul, blue (Sarstedt AG & Co.KG, Nümbrecht, Deutschland)

Pipettenspitze ep T.I.P.S. ® Standard/Bulk 2 - 200 ul (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland)

Eppendorf Tube 5ml (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland)

Safe Seal Tube 1,5 ml (Sarstedt AG & Co.KG, Nümbrecht, Deutschland)

Cups/Pins ROTEM ® delta

Pipettenspitzen ROTEM ® delta

Tube 15 ml mit Schraubverschluss (Sarstedt, Newton, USA)

Cellstar ® Tube 50 ml mit Schraubverschluss (Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Deutschland)

Urin-Monovette ® 8,5 ml (Sarstedt AG & Co.KG, Nümbrecht, Deutschland)

S-Monovette ® 5,5 ml Z, Serum (Sarstedt AG & Co.KG, Nümbrecht, Deutschland)

S-Monovette ® 2,7 ml K3E, EDTA (Sarstedt AG & Co.KG, Nümbrecht, Deutschland)

S-Monovette ® 5 ml 9NC, Citrat (Sarstedt AG & Co.KG, Nümbrecht, Deutschland)

Safety-Multifly ®- Kanüle 20G und 21G (Sarstedt AG & Co.KG, Nümbrecht, Deutschland)

Stauschlauch (VMB Medizintechnik GmbH, Sulz a.N., Deutschland)

Cutasept ® F Hautdesinfizienz (Bode Chemie GmbH, Hamburg Deutschland)

Handschuhe Vasco ® Guard Long S/M (B Braun, Melsungen Deutschland)

Materialliste

Handschuhe Purple Nitril Xtra S/M (Halyard Health)

Abwurfbeutel

Abwurfständer

10.5 Weitere Reagenzien

Apixaban Artikelnr.: TGM-T1763, CAS: 503612-47-3, ITM: 10129232, ODR: 48720, LOT: 118721 (TargetMol bei BIOZOL Diagnostica Vertrieb GmbH, Eching, Deutschland)

Edoxaban Artikelnr.: TGM-T2368, CAS: 1229194-11-9, ITM: 10129231, ODR: 48720, LOT: 145309 (TargetMol bei BIOZOL Diagnostica Vertrieb GmbH, Eching, Deutschland)

Dimethylsulfoxide, ReagentPlus® ≥ 99,5%, LOT: SZBF2090V (Sigma-Aldrich® Chemie GmbH, München, Deutschland)

ROTEM® Reagenzien für die ROTEM® delta Teste EXTEM, FIBTEM, HEPTM, NATEM, ECATEM, TFTEM (Tem Innovations GmbH, München, Deutschland)

11 Literaturverzeichnis

1. Groene P, Butte J, Thaler S, Görlinger K, Schäfer ST. Modified thromboelastometric tests provide improved sensitivity and specificity to direct oral anticoagulants compared to standard thromboelastometric tests in-vitro. *Thrombosis Journal*. 2022;20(1):40.
2. Douxfils J, Adcock DM, Bates SM, Favaloro EJ, Guoin-Thibault I, Guillermo C, et al. 2021 Update of the International Council for Standardization in Haematology Recommendations for Laboratory Measurement of Direct Oral Anticoagulants. *Thromb Haemost*. 2021;121(8):1008-20.
3. Agency EM. Xarelto - rivaroxaban o. J. [Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/xarelto#authorisation-details-section>].
4. Agency EM. Pradaxa - dabigatran etexilate o. J. [Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/pradaxa#authorisation-details-section>].
5. Agency EM. Eliquis - apixaban o. J. [Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/eliquis#authorisation-details-section>].
6. Agency EM. Lixiana - edoxaban o. J. [Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/lixiana#authorisation-details-section>].
7. Lindhoff-Last E, Birschmann I, Bidenharn AJ, Kuhn J, Lindau S, Konstantinides S, et al. Pharmacokinetics of Phenprocoumon in Emergency Situations-Results of the Prospective Observational RADOA-Registry (Reversal Agent Use in Patients Treated with Direct Oral Anticoagulants or Vitamin K Antagonists Registry). *Pharmaceuticals (Basel)*. 2022;15(11).
8. Lindhoff-Last E, Birschmann I, Kuhn J, Lindau S, Konstantinides S, Grottko O, et al. Pharmacokinetics of Direct Oral Anticoagulants in Emergency Situations: Results of the Prospective Observational RADOA-Registry. *Thromb Haemost*. 2022;122(4):552-9.
9. Haas S. Rivaroxaban – an oral, direct Factor Xa inhibitor – lessons from a broad clinical study programme. *European Journal of Haematology*. 2009;82(5):339-49.
10. Byon W, Garonzik S, Boyd RA, Frost CE. Apixaban: A Clinical Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Review. *Clin Pharmacokinet*. 2019;58(10):1265-79.
11. Parasrampur DA, Truitt KE. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Edoxaban, a Non-Vitamin K Antagonist Oral Anticoagulant that Inhibits Clotting Factor Xa. *Clinical Pharmacokinetics*. 2016;55(6):641-55.
12. Kassenärztliche Bundesvereinigung. Wirkstoff Aktuell - Direkte orale Antikoagulanzen bei nicht valvulärem Vorhofflimmern 2020 [Available from: https://www.kbv.de/media/sp/WirkstoffAktuell_6-20_DOAK_Vorhofflimmern.pdf].
13. Linnemann B, Lindhoff-Last E. Gerinnungskaskade. In: Haas S, editor. *Prävention von Thrombosen und Embolien in der Inneren Medizin: Möglichkeiten und Vorzüge von niedermolekularen Heparinen*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2005. p. 32-9.
14. Krishnaswamy S. The transition of prothrombin to thrombin. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2013;11(s1):265-76.
15. Mueck W, Schwes S, Stampfuss J. Rivaroxaban and other novel oral anticoagulants: pharmacokinetics in healthy subjects, specific patient populations and relevance of coagulation monitoring. *Thrombosis Journal*. 2013;11(1):10.
16. Mueck W, Stampfuss J, Kubitzka D, Becka M. Clinical Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Profile of Rivaroxaban. *Clinical Pharmacokinetics*. 2014;53(1):1-16.
17. Stangier J, Clemens A. Pharmacology, Pharmacokinetics, and Pharmacodynamics of Dabigatran Etexilate, an Oral Direct Thrombin Inhibitor. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. 2009;15(1_suppl):9S-16S.
18. Akin M, Widder J, Akin I, Brehm M, Schafer A. Rationale for Development of New Oral Anticoagulants. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets*. 2015;15(2):89-91.
19. Verhoef TI, Redekop WK, Daly AK, van Schie RMF, de Boer A, Maitland-van der Zee A-H. Pharmacogenetic-guided dosing of coumarin anticoagulants: algorithms for warfarin,

Literaturverzeichnis

- acenocoumarol and phenprocoumon. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2014;77(4):626-41.
20. Chen J, Lv M, Wu S, Jiang S, Xu W, Qian J, et al. Severe Bleeding Risks of Direct Oral Anticoagulants in the Prevention and Treatment of Venous Thromboembolism: A Network Meta-Analysis of Randomised Controlled Trials. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2021.
21. Lip GY, Keshishian A, Kamble S, Pan X, Mardekian J, Horblyuk R, et al. Real-world comparison of major bleeding risk among non-valvular atrial fibrillation patients initiated on apixaban, dabigatran, rivaroxaban, or warfarin. A propensity score matched analysis. *Thromb Haemost*. 2016;116(5):975-86.
22. Maegele M, Grottke O, Schöchl H, Sakowitz OA, Spannagl M, Koscielny J. Direct Oral Anticoagulants in Emergency Trauma Admissions. *Dtsch Arztebl Int*. 2016;113(35-36):575-82.
23. Wille H. Antithrombotische Therapie. In: Ludwig W-D, Mühlbauer B, Seifert R, editors. *Arzneiverordnungs-Report 2022*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2022. p. 233-63.
24. Deutsche Gesellschaft für Kardiologie – Herz-und Kreislaufforschung e.V. ESC Pocket Guidelines. Diagnose und Behandlung von Vorhofflimmern (Version 2020). 2021.
25. Deutsche Gesellschaft für Kardiologie – Herz-und Kreislaufforschung e.V. ESC Pocket Guidelines. Management der akuten Lungenembolie (Version 2019). 2020.
26. Konstantinides S, Lankeit M, Erbel C, Tiefenbacher C, Kommission für Klinische Kardiovaskuläre Medizin der D. G. K. Kommentar zu den Leitlinien (2019) der European Society of Cardiology zum Management der akuten Lungenembolie. *Der Kardiologe*. 2020;14(4):248-55.
27. Steffel J, Collins R, Antz M, Cornu P, Desteghe L, Haeusler KG, et al. 2021 European Heart Rhythm Association Practical Guide on the Use of Non-Vitamin K Antagonist Oral Anticoagulants in Patients with Atrial Fibrillation. *EP Europace*. 2021;23(10):1612-76.
28. Gosselin RC, Adcock DM, Bates SM, Douxfils J, Favaloro EJ, Gouin-Thibault I, et al. International Council for Standardization in Haematology (ICSH) Recommendations for Laboratory Measurement of Direct Oral Anticoagulants. *Thromb Haemost*. 2018;118(3):437-50.
29. Pavoni V, Ganesello L, Conti D, Ballo P, Dattolo P, Prisco D, et al. "In Less than No Time": feasibility of rotational thromboelastometry to detect anticoagulant drugs activity and to guide reversal therapy. *Journal of Clinical Medicine*. 2022;11(5):1407.
30. Rimsans J, Douxfils J, Smythe MA, Gosselin RC. Overview and Practical Application of Coagulation Assays in Managing Anticoagulation with Direct Oral Anticoagulants (DOACs). *Current Pharmacology Reports*. 2020;6(5):241-59.
31. Grobosch T. Grundlagen LC-MS und LC-MS/MS o. J. [Available from: <http://www.toxberlin.de/FT/Download/Grundlagen%20LCMS.pdf>.
32. Institut für Laboratoriumsmedizin Klinikum der Universität München. Interne Notizen klinische Studien: ClotPro und DOAK. Institut für Laboratoriumsmedizin Klinikum der Universität München 2017.
33. Gosselin RC, Adcock DM, Douxfils J. An update on laboratory assessment for direct oral anticoagulants (DOACs). *International Journal of Laboratory Hematology*. 2019;41(S1):33-9.
34. Nowak G. The Ecarin Clotting Time, a Universal Method to Quantify Direct Thrombin Inhibitors. *Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis*. 2003;33(4):173-83.
35. Harenberg J, Schreiner R, Hetjens S, Weiss C. Detecting Anti-IIa and Anti-Xa Direct Oral Anticoagulant (DOAC) Agents in Urine using a DOAC Dipstick. *Semin Thromb Hemost*. 2019;45(3):275-84.
36. Harenberg J, Beyer-Westendorf J, Crowther M, Douxfils J, Elalamy I, Verhamme P, et al. Accuracy of a rapid diagnostic test for the presence of direct oral factor Xa or thrombin inhibitors in urine—a multicenter trial. *Thrombosis and Haemostasis*. 2020;120(01):132-40.
37. Merrelaar AE, Bögl MS, Buchtele N, Merrelaar M, Herkner H, Schoergenhofer C, et al. Performance of a Qualitative Point-of-Care Strip Test to Detect DOAC Exposure at the Emergency Department: A Cohort-Type Cross-Sectional Diagnostic Accuracy Study. *Thrombosis and Haemostasis*. 2022;122(10):1723-31.

Literaturverzeichnis

38. Örd L, Marandi T, Märk M, Raidjuk L, Kostjuk J, Banys V, et al. Evaluation of DOAC Dipstick Test for Detecting Direct Oral Anticoagulants in Urine Compared with a Clinically Relevant Plasma Threshold Concentration. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. 2022;28:10760296221084307.
39. Görlinger K, Pérez-Ferrer A, Dirkmann D, Saner F, Maegele M, Calatayud ÁAP, et al. The role of evidence-based algorithms for rotational thromboelastometry-guided bleeding management. *kja*. 2019;72(4):297-322.
40. Riehl K, Lefering R, Maegele M, Caspers M, Migliorini F, Schenker H, et al. Is ROTEM Diagnostic in Trauma Care Associated with Lower Mortality Rates in Bleeding Patients?—A Retrospective Analysis of 7461 Patients Derived from the TraumaRegister DGU®. *Journal of Clinical Medicine*. 2022;11(20):6150.
41. Da Luz LT, Nascimento B, Shankarakutty AK, Rizoli S, Adhikari NKJ. Effect of thromboelastography (TEG®) and rotational thromboelastometry (ROTEM®) on diagnosis of coagulopathy, transfusion guidance and mortality in trauma: descriptive systematic review. *Critical Care*. 2014;18(5):518.
42. Deppe A-C, Weber C, Zimmermann J, Kuhn EW, Slottosch I, Liakopoulos OJ, et al. Point-of-care thromboelastography/thromboelastometry-based coagulation management in cardiac surgery: a meta-analysis of 8332 patients. *Journal of Surgical Research*. 2016;203(2):424-33.
43. Hartmann M, Szalai C, Saner FH. Hemostasis in liver transplantation: Pathophysiology, monitoring, and treatment. *World J Gastroenterol*. 2016;22(4):1541-50.
44. Veigas PV, Callum J, Rizoli S, Nascimento B, da Luz LT. A systematic review on the rotational thromboelastometry (ROTEM®) values for the diagnosis of coagulopathy, prediction and guidance of blood transfusion and prediction of mortality in trauma patients. *Scandinavian Journal of Trauma, Resuscitation and Emergency Medicine*. 2016;24(1):114.
45. Groene P, Wagner D, Kammerer T, Kellert L, Giebl A, Massberg S, et al. Viscoelastometry for detecting oral anticoagulants. *Thromb J*. 2021;19(1):18.
46. Schäfer ST, Wiederkehr T, Kammerer T, Acevedo AC, Feil K, Kellert L, et al. Real-time detection and differentiation of direct oral anticoagulants (rivaroxaban and dabigatran) using modified thromboelastometric reagents. *Thromb Res*. 2020;190:103-11.
47. Schäfer ST, Otto AC, Acevedo AC, Gorlinger K, Massberg S, Kammerer T, et al. Point-of-care detection and differentiation of anticoagulant therapy - development of thromboelastometry-guided decision-making support algorithms. *Thromb J*. 2021;19(1):63.
48. Oberladstätter D, Voelckel W, Schlimp C, Zipperle J, Ziegler B, Grottko O, et al. A prospective observational study of the rapid detection of clinically-relevant plasma direct oral anticoagulant levels following acute traumatic injury. *Anaesthesia*. 2021;76(3):373-80.
49. Milling TJ, Jr., Ziebell CM. A review of oral anticoagulants, old and new, in major bleeding and the need for urgent surgery. *Trends Cardiovasc Med*. 2020;30(2):86-90.
50. Kaatz S, Bhansali H, Gibbs J, Lavender R, Mahan CE, Paje DG. Reversing factor Xa inhibitors - clinical utility of andexanet alfa. *J Blood Med*. 2017;8:141-9.
51. Pollack Jr CV, Reilly PA, Eikelboom J, Glund S, Verhamme P, Bernstein RA, et al. Idarucizumab for dabigatran reversal. *New England Journal of Medicine*. 2015;373(6):511-20.
52. Gómez-Outes A, Alcubilla P, Calvo-Rojas G, Terleira-Fernández AI, Suárez-Gea ML, Lecumberri R, et al. Meta-Analysis of Reversal Agents for Severe Bleeding Associated With Direct Oral Anticoagulants. *J Am Coll Cardiol*. 2021;77(24):2987-3001.
53. Milling TJ, Middeldorp S, Xu L, Koch B, Demchuk A, Eikelboom JW, et al. Final Study Report of Andexanet Alfa for Major Bleeding With Factor Xa Inhibitors. *Circulation*. 2023;147(13):1026-38.
54. Schricker R. ANNEXa-I-Studie: ZNS-Blutung unter FXa-Inhibition. *Dtsch Arztebl International*. 2023;120(45):1909.
55. Anderson CS. Stroke advances in 2023: a new horizon for the management of intracerebral haemorrhage. *The Lancet Neurology*. 2024;23(1):12-3.

Literaturverzeichnis

56. Hartert H. Blutgerinnungsstudien mit der Thrombelastographie, einem neuen Untersuchungsverfahren. *Klinische Wochenschrift*. 1948;26(37):577-83.
57. Salooja N, Perry DJ. Thrombelastography. *Blood Coagulation & Fibrinolysis*. 2001;12(5):327-37.
58. Hartert H. Thrombelastography, a method for physical analysis of blood coagulation. *Z Gesamte Exp Med*. 1951;117(2):189-203.
59. Calatzis A, Görlinger K, Spannagl M, Vorweg M. ROTEM® Analysis, Targeted Treatment of Acute Haemostatic Disorders. 2016.
60. Luddington RJ. Thrombelastography/thromboelastometry. *Clinical & Laboratory Haematology*. 2005;27(2):81-90.
61. Cruz MV, Luker JN, Carney BC, Brummel-Ziedins KE, Bravo M-C, Orfeo T, et al. Reference ranges for rotational thromboelastometry in male Sprague Dawley rats. *Thrombosis Journal*. 2017;15(1):31.
62. Hochleitner G, Sutor K, Levett C, Leyser H, Schlimp CJ, Solomon C. Revisiting Hartert's 1962 Calculation of the Physical Constants of Thrombelastography. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2017;23(3):201-10.
63. Tem International GmbH. Schulungsunterlagen ROTEM® delta. 2016.
64. Körber MK, Langer E, Köhr M, Wernecke KD, Korte W, von Heymann C. In vitro and ex vivo Measurement of Prophylactic Dabigatran Concentrations with a New Ecarin-Based Thromboelastometry Test. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. 2017;44(2):100-5.
65. Gosselin RC, Douxfils J. Ecarin based coagulation testing. *American Journal of Hematology*. 2020;95(7):863-9.
66. Sørensen B, Johansen P, Christiansen K, Woelke M, Ingerslev J. Whole blood coagulation thrombelastographic profiles employing minimal tissue factor activation. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2003;1(3):551-8.
67. Adelman D, Wiegele M, Wohlgemuth RK. Measuring the activity of apixaban and rivaroxaban with rotational thrombelastometry. United States: Elsevier Ltd; 2014.
68. Seyve L, Richarme C. Impact of four direct oral anticoagulants on rotational thromboelastometry (ROTEM). *International Journal of Laboratory Hematology*. 2018;40(1):84-93.
69. Korpálová B, Samoš M, Škorňová I, Bolek T, Žolková J, Vadelová L, et al. Assessing the hemostasis with thromboelastometry in direct oral anticoagulants-treated patients with atrial fibrillation. *Thrombosis Research*. 2020;191:38-41.
70. enicor GmbH. ClotPro Produktbroschüre o. J. [Available from: <https://pdf.medicaexpo.de/pdf/dynabyte-gmbh/clotpro-produktbroschuere/123879-245007.html>].
71. Vedovati MC, Mosconi MG, Isidori F, Agnelli G, Becattini C. Global thromboelastometry in patients receiving direct oral anticoagulants: the RO-DOA study. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*. 2020;49(2):251-8.
72. Pailleret C, Jourdi G, Siguret V, Gouin-Thibault I, Gandrille S, Stepanian A, et al. Modified ROTEM for the detection of rivaroxaban and apixaban anticoagulant activity in whole blood: A diagnostic test study. *European Journal of Anaesthesiology* | EJA. 2019;36(6):449-56.
73. Haemonetics®. TEG® o. J. [Available from: <https://teg.haemonetics.com/de-de>].
74. Dias JD, Norem K, Doorneweerd DD, Thurer RL, Popovsky MA, Omert LA. Use of Thromboelastography (TEG) for Detection of New Oral Anticoagulants. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. 2015;139:665.
75. Bliden KP, Chaudhary R, Mohammed N, Muresan AA, Lopez-Espina CG, Cohen E, et al. Determination of non-Vitamin K oral anticoagulant (NOAC) effects using a new-generation thrombelastography TEG 6s system. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*. 2017;43(4):437-45.
76. Dias JD, Lopez-Espina CG, Ippolito J, Hsiao LH, Zaman F, Muresan AA, et al. Rapid point-of-care detection and classification of direct-acting oral anticoagulants with the TEG 6s:

Implications for trauma and acute care surgery. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. 2019;87(2).

77. Chojnowski K, Górski T, Robak M, Trelński J. Effects of rivaroxaban therapy on ROTEM coagulation parameters in patients with venous thromboembolism. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*. 2015;24(6).

78. Schenk B, Würtinger P, Streif W, Sturm W, Fries D, Bachler M. Ex vivo reversal of effects of rivaroxaban evaluated using thromboelastometry and thrombin generation assay. *British Journal of Anaesthesia*. 2016;117(5):583-91.

79. Henskens Y, Gulpen AJW, van Oerle R, Wetzels R, Verhezen P, Spronk H, et al. Detecting clinically relevant rivaroxaban or dabigatran levels by routine coagulation tests or thromboelastography in a cohort of patients with atrial fibrillation. *Thrombosis journal*. 2018;16(1):1-7.

80. Nilsson CU, Strandberg K, Reinstrup P. Warfarin monitoring with viscoelastic haemostatic assays, thrombin generation, coagulation factors and correlations to Owren and Quick prothrombin time. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. 2018;78(5):358-64.

81. Schmidt DE, Holmström M, Majeed A, Näslin D, Wallén H, Ågren A. Detection of elevated INR by thromboelastometry and thromboelastography in warfarin treated patients and healthy controls. *Thromb Res*. 2015;135(5):1007-11.

82. Connolly SJ, Crowther M, Eikelboom JW, Gibson CM, Curnutte JT, Lawrence JH, et al. Full study report of andexanet alfa for bleeding associated with factor Xa inhibitors. *New England Journal of Medicine*. 2019;380(14):1326-35.

83. Shrestha D, Budhathoki P, Adhikari A, Shrestha S, Khatri N, Joshi T, et al. Efficacy and safety of Andexanet Alfa for factor XA inhibitors use associated intracranial bleeding: A systematic review and meta-analysis. *Journal of the Neurological Sciences*. 2021;429:118226.

84. Costa OS, Connolly SJ, Sharma M, Beyer-Westendorf J, Christoph MJ, Lovelace B, et al. Andexanet alfa versus four-factor prothrombin complex concentrate for the reversal of apixaban- or rivaroxaban-associated intracranial hemorrhage: a propensity score-overlap weighted analysis. *Crit Care*. 2022;26(1):180.

12 Danksagung

12 Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. Zwißler sowie Herrn Prof. Dr. Simon Schäfer für die Möglichkeit der Promotion sowie die Wahl des Promotionsthemas.

Ein Danke auch an die weiteren Betreuer der Betreuungskommission, Herrn PD Dr. Dr. Patrick Scheiermann sowie Herrn PD Dr. Patrick Möhne.

Insbesondere Herrn PD Dr. Philipp Groene möchte ich ganz herzlich für die geduldige, zuverlässige und engagierte Mitbetreuung während der gesamten Zeit danken. Danke, Philipp, für alle Feierabende, Urlaubstage und sogar Festtage, die du dem Lektorat meiner Monografie gewidmet hast.

Ich möchte mich zudem herzlich bei allen Kolleg*innen des Forschungslabors, insbesondere Marion Hoerl und Katharina Biere bedanken, die mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite standen. Der Austausch mit den Kolleg*innen vor Ort während aller Höhen und Tiefen der Forschungsarbeit hat mich stets bei Laune gehalten und weiter motiviert.

An dieser Stelle seien auch meine ‚Leidensgenossen‘ der AG Schäfer/Groene zu nennen: Danke, liebe Aurelia Zodl und lieber Stefan Lennartz, für alles!

Danke dem Team der EDV, der Apotheke, und der Laboratoriumsmedizin für die gute Zusammenarbeit und Unterstützung. Hier möchte ich insbesondere Frau Britta Pauli sowie Frau Dr. Daniela Huttner danken.

Ich möchte mich bei meiner Familie, meinen Freund*innen und meinem Freund Stefan Breunig dafür bedanken, dass sie mich während der gesamten Promotionsphase motiviert, (emotional) unterstützt und mit viel Verständnis begleitet haben. Gleichzeitig möchte ich mich dafür entschuldigen, dass ich häufig wenig Zeit für sie im Gegenzug hatte. Das Abschließen der Promotion ist auch ein Versprechen an euch, dass ich wieder präsenter im Leben sein werde!

Einen gesonderten Dank möchte ich Andreas v. Hellfeld aussprechen: In Gedenken an ihn hat meine Arbeit für mich eine Bedeutung bekommen, die mir einige Male den nötigen Antrieb zum Durchhalten gegeben hat.