Klinik für Herz- und Kreislauferkrankungen des
Deutschen Herzzentrums München des Freistaates Bayern
Technische Universität München

(Direktor: Prof. Dr. Heribert Schunkert)

Effekt der Faktor Xa-Inhibitoren auf die Globaltests der Gerinnung und die Thrombozytenaktivierung

Franziska Ursula Dobler

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Medizin

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Prof. Dr. Ernst J. Rummeny
Prüfer der Dissertation:
1. apl. Prof. Dr. Ilka Ott
2. Prof. Dr. Karl-Ludwig Laugwitz

Die Dissertation wurde am 04.05.2016 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 15.03.2017 angenommen.

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung **1**

1.1 Einführung 1

1.2 Hämostase 3

1.2.1 Primäre Hämostase 3

1.2.2 Sekundäre Hämostase 6

1.3 Wirkweise der Antikoagulantien 9

1.3.1 Heparine 9

1.3.2 Cumarine 9

1.3.3 Fondaparinux 10

1.3.4 Faktor X-Antagonisten 10

1.4 Pharmakologische Eigenschaften der Faktor Xa-Inhibitoren 11

1.5 Studienlage und Indikationen für den Einsatz von Faktor Xa-Inhibitoren 12

1.6 Fragestellung 15

2 Material und Methoden **16**

2.1 Studiendesign 16

2.2 Methoden 17

2.2.1 Thromboplastinzeit (TPZ) und International Normalized Ratio (INR) 17

2.2.2 Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) 18

2.2.3 anti-Faktor Xa Spiegelbestimmung 18

2.2.4 Fibrinogenspiegel 19

2.2.5 Antithrombin III Aktivität 19

2.2.6 D-Dimere 20

2.2.7 Prothrombinfragment F1+2 20

2.2.8 Thrombingenerierung 21

2.2.9 Plättchenaggregometrie 21

2.2.10 Thrombelastometrie 24
2.2.11 von Willebrand Faktor 25
2.2.12 Faktor VII und Faktor VIIa 26
2.2.13 Beta-Thromboglobulin 27
2.2.14 Lösliches P-Selektin 27
2.2.15 Thrombospondin 1 28
2.2.16 Thrombin-Antithrombin-Komplex (TAT) 29
2.2.17 Statistische Auswertung 30

3 Auswertung der Ergebnisse **31**
3.1 Charakterisierung des Patientenkollektivs 31
3.2 Globaltests 32
3.3 Anti-Faktor Xa-Spiegel 35
3.4 Gerinnungsparameter 36
3.4.1 Spezifische Gerinnungstests 36
3.4.2 Thrombelastogramm 39
3.5 Thrombozytenfunktionstests 43

4 Diskussion **44**
4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse 44
4.2 Beeinflussung der Globaltests durch die Faktor Xa-Inhibitoren . . 45
4.2.1 Rivaroxaban 45
4.2.2 Apixaban 47
4.3 Beeinflussung der anti-Faktor Xa-Aktivität 48
4.4 Einfluss auf spezifische Gerinnungstests 49
4.4.1 Thrombingenerierung 49
4.4.2 Fibrinogenspiegel, Antithrombin III und D-Dimere 50
4.4.3 Faktor VII und Faktor VIIa 50
4.4.4 Thrombelastometrie 51
4.5 Thrombozytenfunktion 52

5 Zusammenfassung **53**

Abbildungsverzeichnis **54**

Quellenverzeichnis **57**

A Anhang **70**

A.1 Tabellen 70
A.2 Aufklärungsbogen 82

1. Einleitung

1.1. Einführung

Antithrombotische Medikamente gehörten mit insgesamt über 1400 Millionen Tagesdosen (DDD) im Jahr 2012 zu den in Deutschland am häufigsten eingesetzten Wirkstoffen [66]. Zu ihnen zählen Thrombozytenaggregationshemmer, Fibrinolytika sowie Antikoagulantien.
Mit mehr als 570 Millionen Tagesdosen im Jahr 2012, haben die Antikoagulantien einen Anteil von über 40 % an der Zahl der Gesamtverordnungen der Antithrombotika [34]. Im Vergleich zu den Zahlen des Jahres 2011 stieg die Menge der Verordnungen von Antikoagulantien um 10 % an, was die Fortsetzung einer seit einigen Jahren zu beobachtenden Entwicklung darstellt [34]. Dies zeigt die klinische wie auch gesundheitsökonomische Relevanz dieser Wirkstoffgruppe.
Antikoagulantien hemmen die Thrombenbildung sowohl im arteriellen als auch im venösen Gefäßsystem durch direkte oder indirekte Beeinflussung der plasmatischen Gerinnung. Davon abzugrenzen sind Thrombozytenaggregationshemmer, wie Acetylsalicylsäure (Aspirin) und ADP-Rezeptorantagonisten (Clopidogrel, Prasugrel, Ticagrelor), welche an den Thrombozyten wirken und deren Verklumpen inhibieren.
Das Spektrum der Einsatzbereiche von Antikoagulantien ist vielfältig und beinhaltet prophylaktische, wie auch therapeutische Indikationen.

Es existiert eine Vielzahl antikoagulatorischer Wirkstoffe. Für den akuten Einsatz werden meist Heparine, unfraktioniert oder niedermolekular, verwendet. Diese sind jedoch nur parenteral verfügbar und somit für die Langzeitanwendung ungeeignet.
Die einzige seit langem etablierte, oral verfügbare und damit für die Langzeittherapie geeignete Wirkstoffgruppe, sind die Vitamin K-Antagonisten (VKA). Diese sind unter den Antikoagulantien mit einer Gesamtverordnungszahl von 390 Millionen DDD für 2012, die am häufigsten verordnete Wirkstoffgruppe [34].

In Deutschland wird in der Mehrzahl der Fälle Marcumar® (Phenprocoumon) rezeptiert [34].
Allerdings besitzen VKA nur eine geringe therapeutische Breite. Darüber hinaus zeigen sie eine interindividuell sehr unterschiedliche Pharmakokinetik und rufen zahlreiche Arzneimittelinteraktionen hervor, weshalb ein engmaschiges Monitoring der Gerinnungsfunktion notwendig ist [37].
In den letzten Jahren wurde daher verstärkt an der Entwicklung neuer Wirkstoffe mit verbesserten Eigenschaften, insbesondere im Hinblick auf die Pharmakokinetik und die Applikationsform geforscht.
Drei sogenannte NOAK (Neue Orale Antikoagulantien) wurden bislang in Deutschland zugelassen: Rivaroxaban (Xarelto®, BayerAG) und Dabigatran (Pradaxa ®, Boehringer Ingelheim) im Jahr 2008, Apixaban (Eliquis ®, Bristol-Myers Squibb, Pfizer) im Jahr 2011.
Nach Abschluss der hier durchgeführten Studie, wurde im Juni 2015 Edoxaban (Lixiana ®,Daiichi Sankyo) ein weiterer Faktor Xa- Inhibitor europaweit zugelassen [3]. Weitere Medikamente befinden sich derzeit noch im Zulassungsverfahren.
Im Gegensatz zu den VKA existiert beim Einsatz der NOAK bislang kein routinemäßig durchführbarer Labortest, der die Gerinnungshemmung ausreichend darstellt [27]. Zwar ist bei den NOAK, im Gegensatz zu den VKA, ein Therapiemonitoring nicht erforderlich, jedoch wäre ein Test zur Einschätzung der Gerinnungshemmung beispielsweise im Fall einer akuten Blutung wünschenswert [11, 27].
Des weiteren ist bislang unklar ob bzw. inwiefern die NOAK die Thrombozytenfunktion beeinflussen. Dies ist insbesondere bei der gleichzeitigen Einnahme von Thrombozytenaggregationshemmern von Interesse.

1.2. Hämostase

1.2.1. Primäre Hämostase

Zum Veständnis der Wirkweise der einzelnen Substanzen und der durchgeführten Labortests soll hier zunächst ein Überblick über die Vorgänge bei der Blutgerinnung gegeben werden.
Es wird dabei zwischen der primären/zellulären Hämostase (siehe Abb. 1, Seite 4) und der wenig später einsetzenden sekundären/plasmatischen Hämostase (siehe Abb. 2, Seite 8) unterschieden. Infolge einer Gefäßverletzung kommt es zur Exposition subendothelial gelegener Strukturen der extrazellulären Matrix, wie beispielsweise Kollagen. Diese Strukturen bewirken die Aktivierung von Thrombozyten und deren Anhaften an der Gefäßwand. Eine wichtige Rolle hierbei spielt der in Endothelzellen gebildete von Willebrand-Faktor (vWF). Über den vWF kommt es zu einer stabileren Bindung der Thrombozyten an die Gefäßwand. Außerdem führt er zu einer weiteren Aktivierung von Thrombozyten.
Die Thrombozytenaktivierung führt zu einer Konformationsänderung des an der Zelloberfläche lokalisierten GP IIb/IIIa-Rezeptors. An diesen Rezeptor bindet Fibrin, wodurch es zur Ausbildung von Brücken zwischen Thrombozyten und damit zur Thrombozytenaggregation kommt.
Außerdem verändern aktivierte Thrombozyten die Form ihrer Zelloberfläche, wodurch diese vergrößert und dadurch die Aggregation verbessert wird.
Darüber hinaus führt die Aktivierung zur Sekretion von in den Thrombozyten enthaltenen elektronendichten Granula. In diesen sind weitere Aktivatoren wie ADP, Thromboxan A_2 (TxA_2), Serotonin, vWF und Plättchen aktivierender Faktor (PAF) gespeichert [61].
TxA_2 wird in den Thrombozyten, katalysiert durch das Enzym Cyclooxygenase-1 (COX-1), aus Arachidonsäure gebildet. TxA_2 bewirkt über die Bindung an den TGα-Rezeptor eine weitere Plättchenaktivierung [31]. Die COX-1 kann durch den Wirkstoff Acetylsalicylsäure irreversibel gehemmt werden. Dadurch kommt es zu einer Abschwächung der Thrombozytenaggregation.

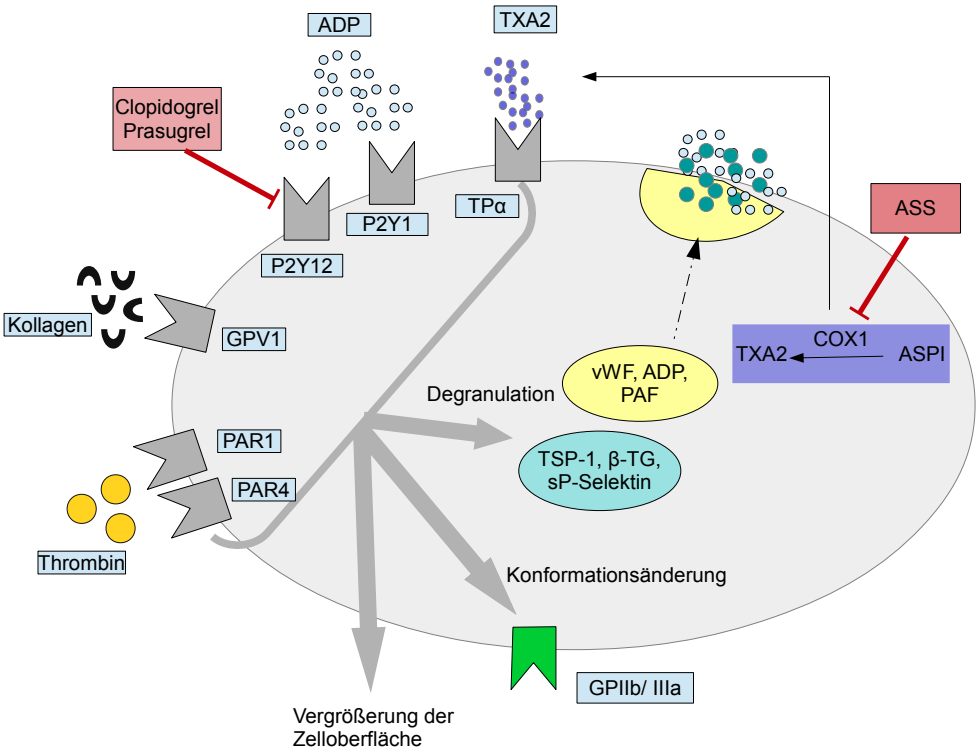

Abbildung (1) *Thrombozytenaktivierung (modifiziert nach Rassow et al.: Duale Reihe Biochemie. 1. Auflage, Thieme-Verlag, Stuttgart 2006)*

Freigesetztes ADP bindet an P2Y12- und P2Y1-Rezeptoren an der Oberfläche der Thrombozyten [78]. Auch dies bewirkt eine weitere Thrombozytenaktivierung. Der P2Y12-Rezeptor kann durch die Gabe von ADP-Rezeptor-Antagonisten, wie Clopidogrel und Prasugrel, gehemmt werden [78].
Außerdem werden die α-Granula der Thrombozyten ausgeschüttet. In diesen befinden sich Proteine wie Thrombospondin-1 (TSP-1), sP-Selektin und β-Thromboglobulin (β-TG) [30].

Diese fördern ebenfalls die Thrombozytenaggregation, werden aber auch bei anderen Vorgängen freigesetzt, wie beispielsweise sP-Selektin bei Entzündungen zur Rekrutierung von Leukozyten, oder TSP-1 als Inhibitor von Neovaskularisation [12, 30, 45].
Ein weiterer Aktivator ist Thrombin. Thrombin bindet an G-Protein-gekoppelte Rezeptoren auf der Thrombozytenmembran, PAR-1 und PAR-4 [42].
Der so entstandene Thrombus ist allerdings instabil und bildet nur eine erste provisorische Abdichtung des Gefäßwandschadens.

1.2.2. Sekundäre Hämostase

Der während der primären Hämostase gebildete Thrombus wird durch Quervernetzung von Fibrin, dem Endprodukt der Gerinnungskaskade, stabilisiert. Dieser Vorgang wird als sekundäre Hämostase oder plasmatische Blutgerinnung bezeichnet.
Fibrin entsteht durch die Abspaltung zweier Proteine von Fibrinogen durch die Serin-Protease Thrombin (= Gerinnungsfaktor II). Thrombin wiederum entsteht aus Prothrombin, ebenfalls durch proteolytische Abspaltung, katalysiert durch Faktor Xa. Dabei bedingt ein aktiviertes Faktor X-Molekül die Umwandlung von mehr als 1000 Thrombin-Molekülen [61].
Die Bildung von Faktor Xa aus Faktor X kann durch zwei unterschiedliche Proteinkomplexe erfolgen: das intrinsische und das extrinsische System.
Das intrinsische System spielt wahrscheinlich in vivo eine untergeordnete Rolle, wird jedoch in der Labordiagnostik,vor allem bei der Messung der aktivierten Thromboplastinzeit (aPTT), häufig verwendet. Der Gerinnungsablauf beginnt mit der Aktivierung von Faktor XII an Fremdoberflächen. Faktor XIIa aktiviert daraufhin Faktor XI, welcher seinerseits Faktor IX aktiviert. Dieser bildet gemeinsam mit Faktor VIIIa und Ca^{2+}-Ionen den oben genannten, Faktor X aktivierenden Komplex [61].
Am Beginn des extrinsischen Systems steht die Aktivierung von Faktor VII durch Tissue Factor (TF). TF ist ein im Membranprotein, das im Gewebe häufig vorkommt, jedoch von Endothelzellen nicht exponiert wird. Daher können die im Blut enthaltenen Gerinnungsfaktoren nur im Fall einer Gewebeverletzung mit TF in Kontakt kommen.
Der durch die Bindung an TF aktivierte Faktor VII bildet nun ebenfalls einen Faktor X aktivierenden Komplex.
Thrombin wiederum aktiviert nicht nur Fibrinogen zu Fibrin, sondern auch die Faktoren V und VIII. Bindet Faktor Xa nun an Faktor Va so entsteht der sogenannte Prothrombinase-Komplex, welcher 300.000mal effektiver die Bildung von Thrombin katalysiert als Faktor Xa allein [60].
Das in dieser Kaskade entstandene Fibrin wird durch Faktor XIII quer-vernetzt, wodurch eine zusätzliche Stabilisierung des Thrombus erreicht wird.
Gleichzeitig wird nun durch den gewebepezifischen Plasminogenaktivator (t-PA) und die Urokinase das fibrinolytische System aktiviert. Dabei wird die Serin-

Protease Plasmin aus der inaktiven Form Plasminogen gebildet. Plasmin spaltet nun die Fibrinpolymere in einzelne Fragmente (Fragment D und E), so dass der Thrombus zerfällt.
Zur Vermeidung einer Ausbreitung der Gerinnungsreaktion über die lokale Gefäßschädigung hinaus gibt es mehrere Mechanismen: Zum einen inaktiviert der Serinproteaseinhibitor Antithrombin III (AT III) Thrombin und Faktor Xa. Zum anderen wird durch Thrombin Protein C aktiviert. Das aktivierte Protein C (APC) wiederum bindet an Protein S. Dieser Komplex spaltet und inaktiviert die Faktoren Va und VIIIa, wodurch die Gerinnung gehemmt wird [61].

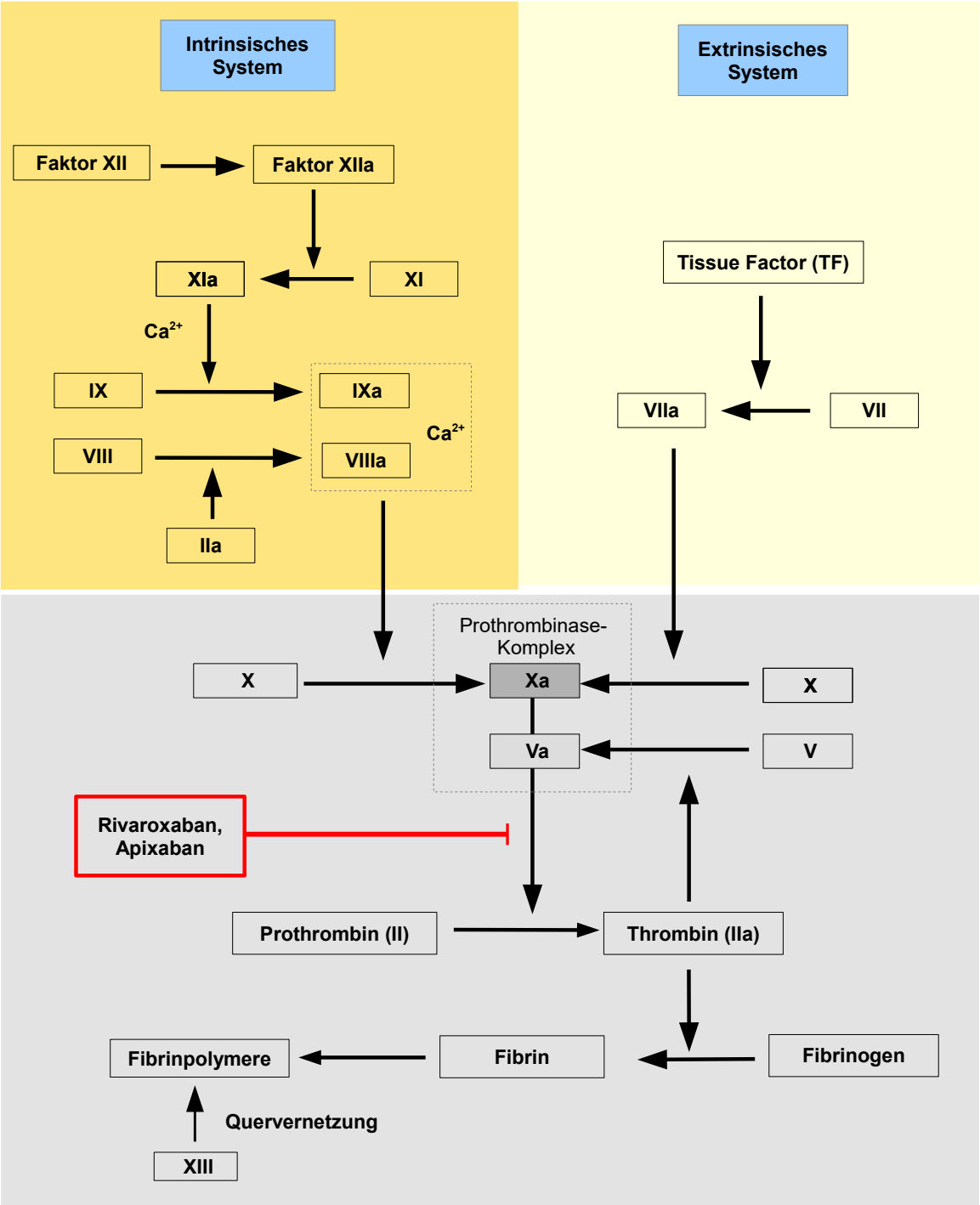

Abbildung (2) *Gerinnungskaskade (modifiziert nach Rassow et al.: Duale Reihe Biochemie. 1. Auflage, Thieme-Verlag, Stuttgart 2006)*

1.3. Wirkweise der Antikoagulantien

1.3.1. Heparine

Heparine wurden erstmals 1916 entdeckt [53]. Zunächst waren nur unfraktionierte Heparine bekannt. In den 1980er Jahren wurde durch enzymatische Abspaltungen fraktioniertes (niedermolekulares) Heparin entwickelt, welches eine geringere spezifische Molmasse als unfraktioniertes Heparin aufweist.
Durch die Bindung von Heparin an AT III wird dessen Wirkung, die Inaktivierung von aktiviertem Faktor V und X (Prothrombinase-Komplex, siehe Abb. 2, Seite 8), um das tausendfache verstärkt. Im Gegensatz zu den fraktionierten Heparinen hemmt unfraktioniertes Heparin zusätzlich direkt Thrombin (Faktor IIa)[38]. Im klinischen Alltag erfolgt die Kontrolle der Wirkung von unfraktioniertem Heparin durch die Messung der PTT. Zur Dosisanpassung der niedermolekularen Heparine wird deren Wirkung über die Bestimmung der Faktor Xa-Aktivität gemessen.

1.3.2. Cumarine

Die Gerinnungsfaktoren II, VII, IX und X werden durch γ-Carboxylierung in der Leber aktiviert, wobei Vitamin K als Co-Faktor dient [58]. Der Wirkmechanismus der Cumarine beruht auf einer kompetitiven Inhibition des Enzyms Chinon-Epoxid-Reduktase, wodurch die Vitamin K-Bildung gehemmt wird [58]. Die Wirkung setzt erst nach etwa 48-72 Stunden ein, da die Halbwertszeit von Thrombin ungefähr 60 Stunden beträgt [37]. Daher sollte die Cumarin-Therapie immer überlappend mit der Gabe von Heparin erfolgen [37].
Zu den Cumarinen zählt Phenprocumon, das in Deutschland am häufigsten verwendete Derivat, besser unter dem Handelsnamen Marcumar® bekannt, sowie das vor allem in den USA häufig eingesetzte Warfarin (Coumarin®) .

Die Wirkung der Cumarine kann durch die Gabe von Vitamin K aufgehoben werden, allerdings erfolgt dies mit einer Latenz von mehreren Stunden. Zur sofortigen Aufhebung der Wirkung ist die Gabe eines Gerinnungsfaktor-Konzentrats notwendig [77].

1.3.3. Fondaparinux

Der erste selektive Faktor Xa-Antagonist war Fondaparinux (Arixtra ®, GlaxoSmithKline). Fondaparinux enthält die Bestandteile des niedermolekularen Heparins (NMH), welche die inhibitorische Wirkung von AT III auf aktivierten Faktor X verstärken. Somit ist Fondaparinux ein indirekter Faktor Xa-Inhibitor [38]. Eine Verstärkung der Hemmung des aktivierten Thrombins, wie sie durch NMH erfolgt, wird durch die Gabe von Fondaparinux nicht ausgelöst. Fondaparinux kann nur subkutan verabreicht werden und eignet sich daher wenig für eine langfristige Gabe [38].

1.3.4. Faktor X-Antagonisten

Rivaroxaban (Bayer HealthCare AG) und Apixaban (Pfizer AG) binden mit sehr hoher Affinität direkt an den aktivierten Faktor X. Dadurch wird sowohl der extrinsische als auch der intrinsische Weg der Gerinnungskaskade inhibiert (siehe Abb. 2, Seite 8). Zusätzlich hemmen die selektiven Gerinnungsinhibitoren auch den physiologisch entscheidenden, im Prothrombin-Komplex gebundenen Faktor Xa [56].
Bislang existiert kein spezifisches Antidot. Bei einer schweren Blutungskomplikation wird empfohlen PPSB zu verwenden [44].

1.4. Pharmakologische Eigenschaften der Faktor Xa-Inhibitoren

Die Bioverfügbarkeit nach oraler Gabe beträgt für Rivaroxaban 80-100 %, für Apixaban 50 % [46, 62]. Die maximale Plasmakonzentration erreicht Rivaroxaban 2-4 Stunden, Apixaban 3-4 Stunden nach Einnahme [46, 62]. Für Rivaroxaban liegt die Halbwertszeit im Plasma bei 4-9 Stunden, für Apixaban bei 10-14 Stunden [46, 62].
Rivaroxaban und Apixaban sind sowohl Substrat des CYP3A4 als auch des P-Glykoproteins, weshalb sich Wechselwirkungen mit Induktoren und Hemmern dieser Enzyme ergeben können. Die Medikamente selbst beeinflussen das Cytochrom-System nicht [4, 5, 11, 56].
Der Abbau von Rivaroxaban erfolgt zu 60 % renal, wobei 30 % unverändert über den Urin ausgeschieden werden. Die übrigen 40 % werden biliär verstoffwechselt [79].
Apixaban wird größtenteils (75 %) hepatobiliär ausgeschieden, 25 % werden über die Nieren eliminiert [62].
Es konnte für beide Wirkstoffe gezeigt werden, dass sowohl Alter, Körpergewicht, Ethnie als auch das Geschlecht keine Dosisanpassung erforderlich machen [11]. Bei der Einnahme von Rivaroxaban ist bei niereninsuffizienten Patienten mit einer Kreatinin-Clearance von $\geq$ 50ml/min keine Reduktion der Dosis notwendig [4]. Bei Werten zwischen 50 und 15ml/min sollte eine Anpassung der Dosis erfolgen, darunter ist Rivaroxaban kontraindiziert [4]. Für Apixaban ist eine Dosisreduktion ab einer GFR von $\leq$ 30ml/min empfohlen, ab einer GFR von $\leq$ 15ml/min liegt eine Kontraindikation vor [5]. Zudem sind beide Medikamente bei Patienten mit mäßiger bis schwerer Beeinträchtigung der Leberfunktion (Child Pug B und C) kontraindiziert [4, 5].
Ein spezifisches Antidot existiert bislang weder für Rivaroxaban noch für Apixaban [44]. Derzeit werden mehrere Substanzen in klinischen Studien getestet [57]

8

1.5. Studienlage und Indikationen für den Einsatz von Faktor Xa-Inhibitoren

Bislang sind Rivaroxaban und Apixaban in der Europäischen Union zur Prophylaxe tiefer Beinvenenthrombosen und Lungenembolien nach Einsatz von Knie- und Hüftgelenksendoprothesen zugelassen, nachdem für beide Medikamente in randomisierten, multizentrischen Studien die statistische Überlegenheit gegenüber Enoxaparin gezeigt werden konnte (Apixaban: ADVANCE-2 und ADVANCE-3 Studie [49]; Rivaroxaban: RECORD 1-3 [24, 48]).
Außerdem werden Faktor Xa-Antagonisten zur Behandlung akuter und rezidivierend auftretender tiefer Beinvenenthrombosen und Lungenembolien eingesetzt [1, 2]. Multizentrische, randomisierte Studien zeigten keine Unterlegenheit von Apixaban (AMPLIFY-Studie [6]) und Rivaroxaban (Einstein-DVT, Einstein-PE [10, 13] gegenüber Warfarin bzw. Enoxaparin.
Darüber hinaus sind sie bei Patienten mit nicht valvulärem Vorhofflimmern und einem CHA2DS2-VASc-Score ≥ 1 zur Prophylaxe systemischer Embolien indiziert [1, 2]. Es konnte die Gleichwertigkeit von Rivaroxaban gegenüber VKA (ROCKET-AF Studie [59]), sowie die Überlegenheit von Apixaban gegenüber VKA (ARISTOTLE-Studie [29])bzw. gegenüber Acetylsalicylsäure (ASS) (Apixaban: AVERROES-Studie [17]) gezeigt werden.
Eine weitere Indikation stellt der Einsatz von Faktor Xa-Inhibitoren bei Patienten mit stattgehabtem akuten Koronarsyndrom (ACS) dar. Das ACS ist ein Überbegriff für Erkrankungen, bei denen es durch den teilweisen bzw. völligen Verschluss einer Koronararterie zu einer Minderversorgung der Herzmuskulatur kommt. Dazu zählen der akute STEMI, der non-STEMI und die instabile Angina pectoris.
Die Standardtherapie dieser Patienten besteht derzeit aus der Kombination von Acetylsalicylsäure mit einem P2Y12 Inhibitor, wie Clopidogrel, um die Ausbildung von Gerinnseln an arteriosklerotischen Plaques und damit den Verschluss der Koronararterien zu verhindern [33, 69]. Die Wirkung dieser dualen Therapie beschränkt sich allerdings auf die Hemmung der primären Hämostase.
In den 1990er Jahren wurde im Rahmen von Studien bereits versucht die duale Therapie mit Marcumar zu ergänzen, um eine zusätzliche Hemmung der plasmatischen Gerinnung zu erzielen. In einigen Studien konnte ein Benefit im Hinblick

auf das Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse unter der zusätzlichen Therapie mit VKA gezeigt werden. Jedoch stieg die Rate der Blutungskomplikationen stark an, sodass dieses Therapieschema letztlich nicht weiter zur Anwendung kam [8, 63, 74].
Vor dem Hintergrund der selektiven Hemmung des Faktor Xa durch die neuen Antikoagulantien wurden Studien durchgeführt, bei denen das duale Therapieschema durch Rivaroxaban bzw. Apixaban ergänzt wurde.
In der APPRAISE Studie (Phase II-Studie) wurde 1715 Patienten mit Zustand nach ACS zusätzlich zur dualen Therapie Apixaban gegeben [16]. In dieser Studie zeigte sich ein Anstieg der Blutungskomplikationen, wenngleich der Trend zur Abnahme kardiovaskulärer Ereignisse beobachtet wurde [16]. Die darauf folgende Phase III Studie (APPRAISE-2) wurde wegen einer großen Zahl schwerer Blutungskomplikationen vorzeitig abgebrochen [7].
In der ATLAS ACS-TIMI 51 (Phase III) Studie wurden 15.526 Patienten mit kürzlich stattgehabtem ACS eingeschlossen, die Aspirin oder Aspirin mit P2Y12 Inhibitor und zusätzlich Rivaroxaban in unterschiedlicher Dosierung (2,5 oder 5 mg) oder ein Placebo erhielten [54]. Dabei zeigte sich eine signifikante Reduktion der Anzahl kardiovaskulärer Ereignisse gegenüber der Placebo-Gruppe [54]. Die Anzahl der schweren Blutungskomplikationen war gegenüber der Placebo-Gruppe nicht signifikant erhöht [54]. Daraufhin wurde die low-dose Gabe von Rivaroxaban (2,5mg) durch die Europäische Arzneimittel-Agentur (EMA) bei stattgehabtem ACS mit erhöhten Biomarkern zugelassen [1].

Tabelle (1) *Vergleich der oralen Antikoagulantien* [4][5][15]

	Phenprocoumon (Marcumar®)	Faktor Xa-Inhibitoren
Applikationsart	oral	oral
zugelassene Indikationen	prophylaktisch • postoperative TVT-Prophylaxe • nach Knie-/Hüft-TEP • bei VHF (CHA2DS2-VASc-Score $\geq$ 1) • nach Herzklappenersatz • nach Myokardinfarkt therapeutisch • akute TVT • akute LAE • TIA	prophylaktisch • nach Knie-/Hüft-TEP • bei VHF (CHA2DS2-VASc-Score $\geq$ 1) • nach ACS mit erhöhten Biomarkern* therapeutisch • akute TVT • akute LAE
Kontraindikationen	erhöhte Blutungsneigung; erhöhtes Blutungsrisiko (z.B. GI- Ulzera) Schwangerschaft; manifeste Niereninsuffizienz; schwere Leberfunktionsstörung	Kreatinin-Clearance $\leq$ 15ml/min**; Leberfunktionsstörungen*** erhöhte Blutungsneigung; erhöhtes Blutungsrisiko (z.B. GI- Ulzera); Schwangerschaft
Monitoring	engmaschige INR-Kontrollen	in der Regel nicht notwendig
spezifisches Antidot	Vitamin K	nicht verfügbar

: nur Rivaroxaban low-dose (2,5mg); **: Apixaban: ab Kreatinin- Clearance $\leq$ 30ml/min Dosisanpassung notwendig, Rivaroxaban: ab Kreatinin- Clearance $\leq$ 50ml/min Dosisanpassung notwendig;*: bei leichter bis mäßiger Leberfunktionsstörung (Child Pug A und B) vorsichtiger Einsatz möglich*
TVT: tiefe Venenthrombose; TEP: totale Endoprothese; VHF: Vorhofflimmern; LAE: Lungenarterienembolie; TIA: transitorische ischämische Attacke; INR: international normalized ratio; CHA2DS2-VASc-Score :C=Herzinsuffizienz, H=Hypertonus, A=Alter über 75 Jahre, D=Diabetes mellitus, S=Z.n. Schlaganfall/ TIA, V=Gefäßerkrankung, A=Alter 65-74 Jahre, Sc=Geschlecht

1.6. Fragestellung

Ein großer Vorteil der Faktor Xa-Inhibitoren gegenüber den herkömmlichen Antikoagulantien ist die Tatsache, dass kein Gerinnungs-Monitoring durchgeführt werden muss. Mit der wachsenden Zahl an Indikationen und der immer stärker werdenden Verbreitung der Medikamente, zeigt sich jedoch in den letzten Jahren, dass die Einschätzung der Gerinnungssituation in manchen Situationen des klinischen Alltags unabdingbar ist.
So ist bei Patienten mit akuter Blutung, mit Nierenversagen oder präoperativ ein schnell verfügbares und kostengünstiges Messverfahren vonnöten, um die Situation richtig einschätzen und die notwendigen Schritte einleiten zu können.
Die Globaltests der Gerinnung, Thromboplastinzeit und aktivierte partielle Thromboplastinzeit, werden routinemäßig in nahezu allen Laboren zur Gerinnungsdiagnostik unter VKA und Heparinen eingesetzt.
Aufgrund der breiten Verfügbarkeit, der niedrigen Kosten und der bereits vorhandenen großen Erfahrung mit diesen Tests, wären sie ideal zum Einsatz im Rahmen der Therapie mit Faktor Xa-Inhibitoren.
Diese Studie untersucht *in vivo* den Effekt der Faktor Xa-Inhibitoren Rivaroxaban und Apixaban auf die Globaltests, mit dem langfristigen Ziel einen Test zur Überprüfung der Wirksamkeit dieser Medikamente zu etablieren.
Desweiteren wurden an den selben Blutproben spezielle Gerinnungstests durchgeführt. Dies dient zum einen der weiteren Suche nach Tests zur Gerinnungsdiagnostik der Faktor Xa-Inhibitoren, zum anderen aber auch der Überprüfung, ob die Aussagekraft dieser Tests unter Faktor Xa-Inhibitoren eingeschränkt ist.
Abschließend wurde der Einfluss von Rivaroxaban und Apixaban auf die Thrombozytenaktivierung ebenfalls an diesen Blutproben untersucht. Dies ist vor allem beim gemeinsamen Einsatz von Thrombozytenaggregationshemmern mit Faktor Xa-Inhibitoren beim akuten Koronarsyndrom von Interesse, um eine mögliche synergistische Wirkung der beiden Wirkstoffe auszuschließen.
Dazu wurden, um den zeitlichen Ablauf der antikoagulatorischen Wirkung darzustellen, serielle Blutentnahmen vor und nach Einnahme von Rivaroxaban oder Apixaban durchgeführt .

2. Material und Methoden

2.1. Studiendesign

Um die Effekte der direkten Faktor Xa-Inhibitoren auf die verschiedenen Gerinnungsparameter im zeitlichen Verlauf zu bestimmen, wurden bei insgesamt 37 Patienten serielle Blutentnahmen durchgeführt. Von diesen erhielten 24 Patienten eine Antikoagulation mit Rivaroxaban, 13 mit Apixaban.
Es wurden jeweils 20 ml 3,8 % Citratplasma (S-Monovette® Gerinnung, Citrat 1:10, Sarstedt), 5 ml Hirudinblut (S-Monovette® Hirudin, Sarstedt), 5 ml PFA-Blut (S-Monovette® für PFA 100, Sarstedt)und 5 ml DTI-Blut (Thrombin Blood Collection Tubes, american diagnostica) entnommen. Die Abnahmen erfolgten vor Einnahme von Rivaroxaban/Apixaban, sowie 2 und 6 Stunden nach Einnahme des Präparats jeweils aus einer peripheren Vene. Das entnommene Blut wurde sofort in die Abteilung der klinischen Chemie des Deutschen Herzzentrum München transportiert, wo ein Teil der Tests unmittelbar durchgeführt wurde. Jeweils 3 Röhrchen mit 3,8 % Citratplasma und das Blut des DTI-Röhrchens wurden 15 Minuten bei 3800 x g bei Raumtemperatur zentrifugiert. Anschließend wurde der Überstand bis zur weiteren Verarbeitung bei $-80°$ C tiefgefroren.
In die Studie eingeschlossen wurden Patienten mit einer Antikoagulation durch Rivaroxaban oder Apixaban. Ausschlusskriterien stellten lediglich eine Anämie und die Ablehnung durch den Patienten dar.
Die Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Technischen Universität München erteilte die Erlaubnis zur Durchführung dieser Studie. Von allen Patienten wurde nach ausführlicher Aufklärung das schriftliche Einverständnis eingeholt.

2.2. Methoden

2.2.1. Thromboplastinzeit (TPZ) und International Normalized Ratio (INR)

Die Thromboplastinzeit (TPZ) wurde im Labor der klinischen Chemie des DHZ bestimmt. Hierbei wurde das Dade® Innovin® Reagenz (Siemens Healthcare) verwendet. Dieses Reagenz enthält neben rekombinantem humanem Gewebefaktor (Thromboplastin), synthetische Phopholipide, Calcium, Puffer und Stabilisatoren. Die Thrombenbildung im Citrat-Blut wird durch Induktion des exogenen Aktivierungsweges ausgelöst. Das Reagenz wird standardmäßig zur Überwachung der Antikoagulation mit Vitamin-K Antagonisten eingesetzt und zeigt keine Veränderung bei therapeutischer Heparinisierung.
Gemessen wird die Zeit bis zur Gerinnselbildung nach Zugabe des Reagenz zum Citrat-Blut. Diese wird als TPZ (TPZ_{test}) in Sekunden angegeben. Um die Werte verschiedener Labore vergleichen zu können, wurde die International Normalized Ratio (INR) eingeführt. Dieser standardisierte Wert beschreibt das Verhältnis von gemessener TPZ (TPZ_{test}) zur TPZ beim Gesunden (TPZ_{normal})

$$INR = \frac{TPZ_{\text{test}}}{TPZ_{\text{normal}}}$$

Der Referenzbereich für gesunde Personen liegt für die TPZ bei 70-120 %, für den INR bei 0,9-1,25.

2.2.2. Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT)

Die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) wurde, unter Verwendung des Pathromtin SL® Reagenz (Siemens Healthcare), im Labor der klinischen Chemie des DHZ bestimmt. Hierbei werden Phospholipide, Oberflächenaktivator und Calcium zu Citratplasma hinzugegeben, was zur Aktivierung des endogenen Wegs des Gerinnungssystems führt. Es wird wiederum die Zeit bis zur Ausbildung eines Gerinnsels gemessen.
Der Referenzbereich für gesunde Personen liegt bei 25,9-36,6 s.

2.2.3. anti-Faktor Xa Spiegelbestimmung

Die Rivaroxaban-Spiegelbestimmung erfolgte durch das klinisch-chemische Labor des DHZ. Es wurde der chromogene Test Coamatic® Heparin (Chromogenix) verwendet. Als Kalibrationsplasma für Rivaroxaban wurde TECHNOVIEW® Rivaroxaban CAL Set (Technoclone) für Konzentrationen von 0 bis 150 ng/ml verwendet, für Konzentrationen bis 500 ng/ml das CAL High Set (Technocolone). Für die Messung des Apixaban-Spiegels wurde TECHNOVIEW® Apixaban Calibrator (Technoclone) benutzt. Die Messungen wurden in Citratplasma durchgeführt.
Der Probe wird zunächst eine vorgegebene Menge an Faktor Xa hinzugefügt, welcher durch das im Plasma vorhandene Rivaroxaban inaktiviert wird.
Daraufhin wird chromogenes Substrat S-2732 zugegeben. Der noch vorhandene, aktive Faktor Xa spaltet von diesem Substrat einen gelben Farbstoff ab, der zu einer Änderung der Lichtabsorption führt. Diese wird bei 405 nm gemessen und die Rivaroxaban-Konzentration unter Zuhilfenahme einer Kalibrationskurve bestimmt.

2.2.4. Fibrinogenspiegel

Der Fibrinogen-Spiegel wurde ebenfalls im klinisch-chemischen Labor des DHZ bestimmt. Es wurde das Multifibren U ® Reagenz (Siemens Healthcare) verwendet. Bei diesem Test wird, nach der Methode nach Clauss, Thrombin in hoher Konzentration zum Citratplasma hinzugefügt. Dadurch ist die Zeit bis zur Gerinnselbildung vorrangig vom Fibrinogengehalt des Plasmas abhängig, welcher mit Hilfe einer Eichkurve bestimmt wird.
Der Referenzbereich für gesunde Personen liegt bei 1,8-3,53,5 g/l.

2.2.5. Antithrombin III Aktivität

Zur Quantifizierung der Antithrombin-Aktivität im Citratplasma wurde das INNOVANCE® Antithrombin Reagens (Siemens Healthcare) verwendet. Der Test wurde vom Labor der klinischen Chemie des DHZ durchgeführt. Hierbei wird aktivierter Faktor X im Überschuss zu der Probe hinzugefügt. Das im Citratplasma enthaltene Antithrombin bindet und inaktiviert einen Teil des zugefügten Faktor Xa. Daraufhin wird ein spezifisches chromogenes Substrat durch den noch aktiven Faktor X unter Farbfreisetzung gespalten. Durch Messung der Extinktionszunahme bei 405 nm wird die Geschwindigkeit der Substratspaltung bestimmt.
Daraus lässt sich nun die Aktivität des Antithrombins errechnen, da diese sich umgekehrt proportional zur Freisetzung des Farbstoffes verhält. Der Referenzbereich für gesunde Personen liegt bei 83-118 % der Norm.

2.2.6. D-Dimere

Die quantitative Bestimmung des D-Dimer-Gehaltes wurde ebenfalls durch das klinisch-chemische Labor des DHZ durchgeführt. Verwendet wurde das INNOVANCE® D-Dimer Reagens (Siemens Healthcare).
Der Test wurde in Citrat-Plasma durchgeführt.
Bei der Fibrinolyse wird das quer-vernetzte Fibrin gespalten. Die kleinsten dabei freiwerdenden Einheiten sind D-Dimere, welche aus zwei vernetzten D-Fragmenten bestehen.
Zur Messung der im Plasma vorhandenen Menge an D-Dimeren werden Polystyrolpartikel verwendet, die mit einem monoklonalen Antikörper beladen sind. Wenn diese Polystyrolpartikel zu einer Probe gegeben werden, welche D-Dimere enthält,kommt es zur Aggregation. Da die D-Dimere spiegelbildlich aufgebaut sind, kommt das Epitop für den monoklonalen Antikörper zweifach vor. Daher kommt es unter Verwendung von nur einem Antikörper zur Ausbildung großer Antigen-Antikörper-Komplexe und damit zu einer Zunahme der Trübung der Probe, welche immunturbidimetrisch gemessen wird.
Der Referenzbereich für gesunde Personen liegt bei 0,55 mg/l FEU.

2.2.7. Prothrombinfragment F1+2

Die Messung von Prothrombinfragment F 1+2 wurde vom klinisch-chemischen Labor des DHZ unter Verwendung des Enzygnost® F 1+2 (Siemens Healthcare) Reagens durchgeführt. Bei der Umwandlung von Prothrombin zu Thrombin im Verlauf der Gerinnungskaskade wird Prothrominfragment (F1+2) freigesetzt. Durch die Bestimmung der Menge dieser Fragmente können Rückschlüsse auf die Menge des tatsächlich gebildeten Thrombins gezogen werden. Der Test ist ein antikörperbasiertes Nachweisverfahren (ELISA) nach dem Sandwich-Prinzip. Dabei wird das Citrat- Plasma auf eine Mikrotiterplatte gegeben, auf deren Oberfläche monoklonale Maus- Anitkörper gegen F 1+2 fixiert sind. Nachdem Prothrombinfragment daran gebunden hat, wird ein zweiter Peroxidase- konjugierter Antikörper gegen Prothrombin auf die Platte gegeben. Im Anschluss wird, nach Auswaschen des überschüssigen Antikörpers, die Farbintensität des

durch die Peroxidase gebildeten Farbstoffes photometrisch bestimmt werden. Mit Hilfe einer Kalibrationskurve kann die Prothrombinfragment F1+2 Konzentration bestimmt werden.
Der Referenzbereich für gesunde Personen liegt bei 69-229 pmol/l.

2.2.8. Thrombingenerierung

Die Messung der Thrombingenerierung wurde mit dem calibrated automated thrombrogram-based assay®(CAT) von Diagnstica Stago im klinisch-chemischen Labor des DHZ durchgeführt. Um die Gerinnungskaskade zu starten werden der Probe Calciumionen, Tissue Factor und Phospholipide zugefügt. Das hierbei entstehende Thrombin spaltet Fluorophor von einem Substrat ab. Die Änderung der Fluoreszenz wird kontinuierlich aufgezeichnet. Mithilfe einer Kalibrationskurve kann die Thrombinkonzentration gegen die Zeit aufgetragen werden. In der Thrombingenerierungskurve können nun die Parameter Lag Phase, welche mit der klassischen Gerinnungzeit korreliert, das Thrombinmaxium (CATPeak), die Gesamtmenge des über die Zeit gebildeten Thrombins (ETP), die maximale Thrombinbildungsgeschwindigkeit und die Zeit bis zum Thrombinpeak abgelesen werden. Der Referenzbereich für gesunde Personen liegt für die ETP bei 1745-2737 mol*min und für den CATpeak bei 433-669 nmol [32].

2.2.9. Plättchenaggregometrie

Um die Funktion der Thrombozyten zu testen, wurde der Multiplate® Analyzer (Roche) verwendet. Die Tests wurden durch das klinisch-chemische Labor des DHZ durchgeführt.
In der Multiplate® Testzelle lagern sich die aktivierten Thrombozyten unter Ausbildung von Aggregaten an die Sensordrähte an. Dadurch kommt es zu einer Änderung des Widerstandes zwischen den Drähten, welcher kontinuierlich aufgezeichnet wird. Es wird die "area under the curve" (AUC) angegeben.
Im ADPtest Multiplate® Reagens ist Adenosin enthalten, welches nach Zugabe

die Ausbildung eines Gerinnsels triggert. Ist der P2Y12-Rezeptor gehemmt, zum Beispiel bei Einnahme von ADP-Antagonisten (Clopidogrel, Prasugrel), kann die Thrombozytenaggregation weniger oder gar nicht ausgelöst werden (siehe Abb. 1, Seite 4).
TxA_2 führt zu einer Konformationsänderung des GPIIb/IIIa Rezeptors und dadurch zur Thrombozytenaggregation. Daher kommt es nach Zugabe von ASPItest Multiplate® Reagens, das Arachidonsäure enthält, zur Thrombozytenaggregation. Ist jedoch die COX-1 durch den Wirkstoff Acetylsalicylsäure irreversibel gehemmt, so ist die Thrombozytenaggregation abgeschwächt oder sie bleibt vollständig aus.
Die Thrombozytenaktivierung und Konformationsänderung des GPIIb/IIIa Rezeptors kann auch über Thrombin ausgelöst werden. Dieser Aktivierungsweg kann, Thrombin-unabhängig, durch die Zugabe von TRAP-6 (TRAPtest Multiplate®), welches PAR-1 stimuliert, getestet werden.
Desweiteren werden Thrombozyten durch Kollagen aktiviert (siehe Abb. 1, Seite 4). Kommt es bei Zugabe von Kollagen (COLtest Multiplate®) zu einer abgeschwächten oder aufgehobenen Thrombozytenaggregation, so können somit sowohl die Inhibierung der Cyclooxigenase durch Acetysalicylsäure als auch die Inhibierung des GPIIb/IIIa-Rezeptors die Ursache sein.
Der Referenzbereich für gesunde Personen liegt bei 570-1130 AU*min für den ADP-Test, 710-1150 AU*min für den ASPI-Test und 840-1280 AU*min für den TRAP-Test.

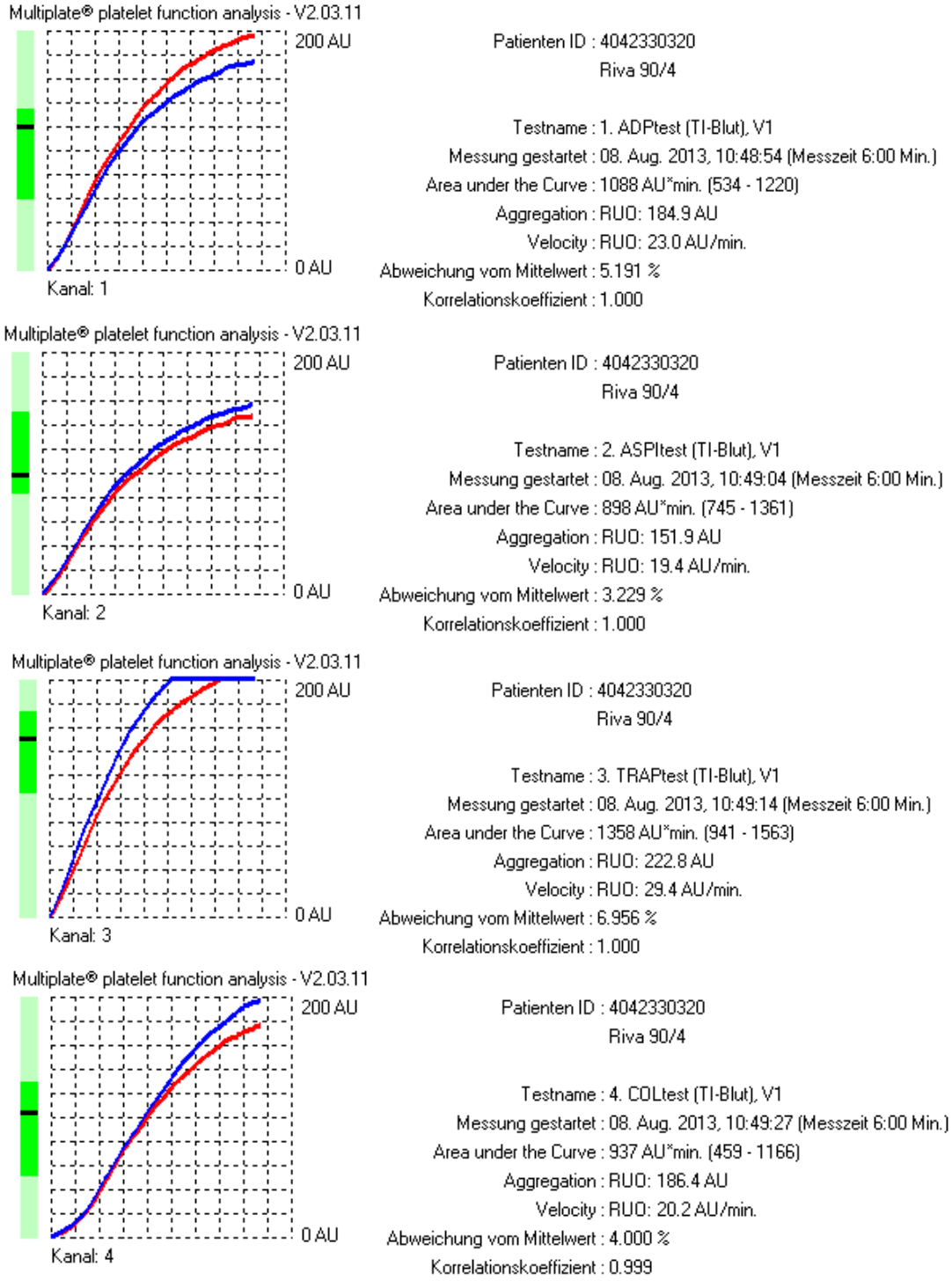

Abbildung (3) *Beispiel einer Multiplate®Messung aus der Gruppe der Rivaroxaban-Patienten*

2.2.10. Thrombelastometrie

Die ROTEM®-Analyse (Rotations-Thromb-Elastogramm) wurde im klinisch-chemischen Labor des DHZ durchgeführt.
Hierbei wird PFA-Blut in eine Küvette gegeben, in die ein zylindrischer Stempel eintaucht. Dieser Stempel wird abwechselnd nach links und nach rechts gedreht. Kommt es zur Blutgerinnung, so hemmt das Gerinnsel die Drehung zunehmend mit steigender Gerinnselfestigkeit. Ein an das Messgerät angeschlossener Computer berechnet die Kurve.
Durch Zugabe unterschiedlicher Reagenzien können verschiedene Aspekte der Gerinnungskaskade analysiert werden. Im EXTEM kommt es zur Aktivierung der extrinsischen Gerinnung durch TF.
Im INTEM wird die intrinsische Gerinnung über die Kontaktphase ausgelöst.
Es wird die CT (Clotting Time) von Beginn der Messung bis zum Einsetzen der Gerinnung gemessen. Außerdem wird die CFT (Cot Formation Time), welche die Zeit vom Beginn der Gerinnung bis zur Ausbildung eines Gerinnsels einer bestimmten Stabilität bestimmt. Anhand der Kurve können außerdem der Alpha-Winkel, der die Steigung der Kurve zeigt, und die MCF (Maximum Clot Firmness) abgelesen werden.
Die Referenzbereiche für gesunde Personen liegen bei CT (EXTEM): 42-74 s, CT (INTEM): 137-246 s; CFT (EXTEM): 46-148 s, CFT (INTEM): 40-100 s; MCF (EXTEM): 49-71 mm, MCF (INTEM): 52-72 mm [47].

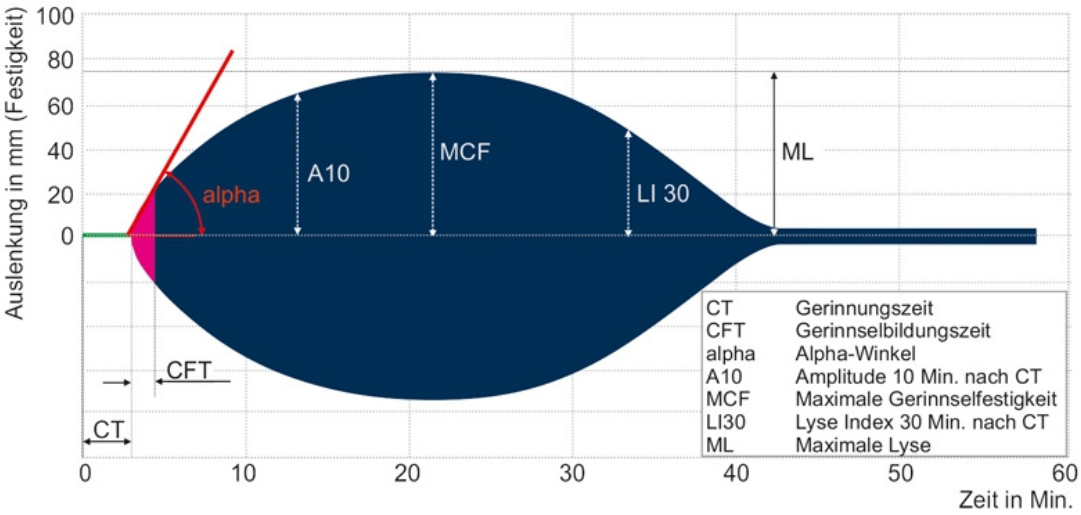

Abbildung (4) *Thrombelastometrie*
Quelle: https://www.rotem.de/methodik/rotem-analyse/

2.2.11. von Willebrand Faktor

Die Bestimmung der Konzentration von vWF und aktivem vWF wurde durch das Department of Clinical Chemistry and Hematology des University Medical Center Utrecht in den Niederlanden durchgeführt.
Dazu wurde ein halbautomatischer ELISA Roboter (Freedom EVO, Tecan, Schweiz) verwendet. Zur Bestimmung des aktiven vWF wurde ein in Utrecht entwickelter, llama-anti-active VWF Antikörper (UMC-Utrecht, clone: AU/VWF-a11), verwendet [41, 64]. Um den Gesamtspiegel von vWF, also aktivierter und nicht-aktiver vWF, zu messen, wurde anti-total vWF IgG (DAKO, A0082) eingesetzt [64]. Die Mikrotiterplatten wurden über Nacht bei 4 ° C mit 0,0775 µg/ml anti-total vWF IgG bzw. 5 µg/ml anti-active vWF inkubiert [64]. Daraufhin wurden die Platten 5 mal mit PBS, welches 0,5 % Tween 20 enthielt, gewaschen. Danach wurden die Proben verdünnt, 1:625 für gesamt-vWF und 1:10 für aktivierten vWF, aufgetragen und für 2 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert [41].
Anschließend wurden die Platten erneut gewaschen und mit 0,55 µg/ml polyklonalem rabbit-anti-human vWF bzw. anti-human-active vWF, welche mit

Meerrettichperoxidase (HRP) konjugiert waren, für eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert [41, 64]. Die Platten wurden danach mit 100 µl 3,3′,5,5′-tetramethylbenzidine (TMB) Substrat inkubiert. Die Reaktion wurde durch H_2SO_4 gestoppt und der Farbumschlag durch einen Spectramax reader (MDS Analytical Technologies) bei 450 nm gemessen. Der Median der bei 652 gesunden Erwachsenen gemessenen Werte für akivierten vWF lag bei 264 ng/ml [64]. Für den gesamt-vWF Spiegel lag dieser im selben Patientenkollektiv bei 19,6 µg/ml [64].

2.2.12. Faktor VII und Faktor VIIa

Die Spiegelbestimmung von Faktor VII und Faktor VIIa erfolgte ebenfalls durch das Department of Clinical Chemistry and Hematology des University Medical Center Utrecht in den Niederlanden.
Es wurde auch hier ein halbautomatischer ELISA Roboter (TECAN freedom EVO robot, Männedorf, Schweiz) benutzt. Über Nacht wurden die Mikrotiterplatten mit polyklonalem anti-Faktor VII-Antikörper (1 µg/ml, SAFVII-IG; Stago, Asnières sur Seines, Frankreich) bzw. mit dem in Utrecht entwickeltem anti-Faktor VIIa-Antikörper (2 µg/ml α FVIIa-VHV) bei 4° inkubiert [39]. Danach wurden die Platten 5 mal mit PBS, welches 0,5 % Tween 20 enthielt, gewaschen. Die Blutproben wurden mit PBS/10,5 % BSA 20:1 für Faktor VII und 4:1 für Faktor VIIa verdünnt, aufgetragen und für 2 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert [39]. Hierauf wurden die Platten erneut mit PBS/ 0,5 % Tween 20 gewaschen und mit chicken-anti-Faktor VIIa-Antikörper (Verdünnung: 1:5000, Abcam, Cambridge, UK) bzw. mit HRP-konjugiertem anti-Faktor VII-Antikörper (1 µg/ml, SAFVII-HRP; Stago) inkubiert [39]. Zur Messung des Faktor VIIa wurden die Platten, nach einem erneuten Waschschritt, mit HRP-konjugiertem donkey-anti-chicken-Antikörper (Verdünnung: 1:5000, Jackson Immuno Research, West Grove, PA, USA) inkubiert. Danach wurde das Substrat zugefügt und der Farbumschlag durch Spectramax reader (MDS Analytical Technologies) bei 450 nm gemessen.
In einer vom Department of Clinical Chemistry and Hematology des University Medical Center Utrecht durchgeführten Studie wurden bei insgesamt 275 intensivmedizinisch betreuten Patienten die Faktor VII und Faktor VIIa Spiegel mit

oben beschriebenem Verfahren bestimmt. Hierbei zeigte sich für Faktor VII ein medianer Plasmaspiegel von 4.2 ng/ml (25. und 75. Perzentile: 1,7 ng/ml; 9,3 ng/ml) und für Faktor VIIa ein medianer Plasmaspiegel von 205 ng/ml (25. und 75. Perzentile: 133,0 ng/ml; 426,2 ng/ml)[39].

2.2.13. Beta-Thromboglobulin

Zur Messung der Plättchenaktivierung wurde β-Thromboglobulin gemessen. Dieses wird in den α-Granula der Thrombozyten gespeichert und bei deren Aktivierung ausgeschüttet. Die Messungen wurden vom Department of Clinical Chemistry and Hematology des University Medical Center Utrecht in den Niederlanden durchgeführt.
Die Mikrotiterplatten wurden zunächst mit monoklonalem mouse anti-human NAP-2 (MAB393; 1 µg/ml) über Nacht inkubiert [68]. Am nächsten Tag wurde mit 1 % BSA geblockt und die Platten mit 1:80 verdünntem Citratplasma inkubiert [68]. Danach wurde mit PBS/ 0,5 % Tween 20 gewaschen. Zur Detektion wurde mit Biotin-konjugierter goat anti-human NAP-2 (BAF393; 50 ng/ml), verwendet [68]. Es wurde Straptavidin-poly-HRP und SuperSignal West Pico Chemiluminescent Substrat dazugegeben. Danach wurde die Lumineszenz mit einem Spectramax reader (MDS Analytical Technologies) gemessen. In einer Studie, die ebenfalls vom Department of Clinical Chemistry and Hematology des University Medical Center Utrecht durchgeführt wurde, wurde der β-Thromboglobulin- Spiegel bei 628 gesunden, unter 50-jährigen Frauen mit oben genannter Methode bestimmt. Hierbei zeigte sich ein medianer Spiegel von 46,5 ng/ml(25. und 75. Perzentile: 35,7 ng/ml; 58,4 ng/ml)[68].

2.2.14. Lösliches P-Selektin

Zur Messung der Thrombozytenaktivierung wurde lösliches P-Selektin (sP-Selektin) bestimmt, welches in den α-Granula der Thrombozyten gespeichert ist und bei deren Aktivierung ausgeschüttet wird.

Die Konzentration des sP-Selektins wurde durch das Department of Clinical Chemistry and Hematology des University Medical Center Utrecht in den Niederlanden gemessen.
Für die Durchführung des ELISAs wurde ein halbautomatischer ELISA Roboter (TECAN freedom EVO robot, Männedorf, Schweiz) verwendet. Die Mikrotiterplatten wurden über Nacht mit mouse anti-human P-selectin Antikörper (1 µg/ml, DY137 Duoset; R&D Systems, Abingdon, UK) bei 4° inkubiert [75]. Am nächsten Tag wurden die Platten 5 mal mit PBS/ 0,5 % Tween20 gewaschen und danach wurde das Plasma (Verdünnung: 1:10) aufetragen. Nach einer Inkubationszeit von 2 Stunden bei Raumtemperatur, wurden die Platten erneut 5 mal mit PBS/ 0,5 % Tween20 gewaschen und mouse anti-human P-selectin Antikörper (0,01 µg/mL) wurde aufgetragen [75]. Nachdem die Platten gewaschen wurden, wurde Streptavidin-poly- HRP für eine Stunde hinzugefügt und danach erfolgte wieder das Waschen mit PBS/ 0,5 % Tween20. Hierauf wurde SuperSignal ELISA Pico chemiluminescent Substrat aufgetragen und die Lumineszenz wurde nach einer Stunde bei 490nm mit dem SpectraMax L microplate reader (Molecular Devices Inc. Silicon Vally, CA, USA) gemessen. Mit der selben Methode wurde in einer Studie, ebenfalls am Department of Clinical Chemistry and Hematology des University Medical Center Utrecht bei 40 Patienten mit Mitralklappeninsuffizienz der Plasmaspiegel des sP-Selektins gemessen. Hierbei ergab sich ein medianer Spiegel von 62,7 ng/ml (25. und 75. Perzentile 49,0 ng/ml; 76,4 ng/ml [43]

2.2.15. Thrombospondin 1

Auch Thrombospondin 1 (TSP-1) ist ein Marker für die Plättchenaktivierung. Der TSP-1-Spiegel wurde im Department of Clinical Chemistry and Hematology des University Medical Center Utrecht in den Niederlanden gemessen.
Es wurde auch hier der halbautomatische ELISA Roboter (TECAN freedom EVO robot, Männedorf, Schweiz) verwendet. Zunächst wurde der erste Antikörper mouse anti-TSP-1 IgG (0,5 µg/ml, DY3074; R&D Systems, Abingdon, UK) auf die Mikrotiterplatten aufgebracht und über Nacht bei 4° inkubiert [40]. Am Tag darauf erfolgte nach 5 Waschschritten mit PBS/ 0,5 % Tween20 eine zweistündi-

ge Inkubation mit 1:15 verdünntem Plasma bei Raumtemperatur [40]. Danach wurden die Platten wieder, wie oben beschrieben, gewaschen und der zweite Antikörper goat anti-human TGF-1b IgG (100 ng/ml, BAF3074; R&D Systems, Abingdon, UK) aufgetragen. Hierauf erfolgten erneut 5 Waschschritte [40]. Danach wurde mit Streptavidin-poly-HRP für eine Stunde inkubiert. Nachdem wieder das Waschen mit PBS/0,5 % Tween20 erfolgt war, wurde SuperSignal ELISA Pico chemiluminescent Substrat aufgetragen und die Lichterscheinung wurde nach einer Stunde mit dem SpectraMax L microplate reader (Molecular Devices Inc. Silicon Vally, CA, USA) gemessen. Mit dieser Methode wurde in einer Studie des Department of Clinical Chemistry and Hematology des University Medical Center Utrecht bei 293 Patienten mit akutem Koronarsyndrom (ACS) der TSP-1-Spiegel gemessen. Hierbei zeigte sich ein medianer Wert von 231,2 ng/ml (25. und 75. Perzentile: 151,5 ng/ml; 358,0 ng/ml)[40].

2.2.16. Thrombin-Antithrombin-Komplex (TAT)

Der Thrombin-Antithrombin-Komplex Spiegel wurde im Department of Clinical Chemistry and Hematology des University Medical Center Utrecht in den Niederlanden gemessen.
Für die Durchführung des ELISAs wurde ein halbautomatischer ELISA Roboter (TECAN freedom EVO robot, Männedorf, Schweiz) verwendet.
Über Nacht wurden die Mikrotiterplatten mit sheep anti-human thrombin (HAP1204-A2R1, Kordia/Aff. Biologicals) bei 4° inkubiert. Danach wurden die Platten 5 mal mit PBS, welches 0,5 % Tween 20 enthielt, gewaschen. Die Blutproben wurden mit PBS/1 % BSA 4:1 verdünnt, aufgetragen und für 2 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Hierauf wurden die Platten erneut mit PBS/0,5 % Tween 20 gewaschen und mit Peroxidase-konjugiertem sheep anti-human antithrombin (ATIII) (HRPAP2063-AR1 Kordia/Aff. Biologicals) inkubiert. Zur Messung der TAT Komplexe wurden die Platten, nach einem erneuten Waschschritt, Streptavidin-poly- HRP für eine Stunde hinzugefügt. Danach erfolgte wieder das Waschen mit PBS/ 0,5 % Tween20. Danach wurde das Substrat zugefügt und der Farbumschlag durch Spectramax reader (MDS Analytical Technologies) bei 490 nm gemessen. Der Normwert für TAT- Komplex ist <4,6 µg/ml. [76]

2.2.17. Statistische Auswertung

Bevor der T-Test durchgeführt wurde, wurde mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov Test geprüft, ob die Daten normalverteilt sind.
Die demographischen Daten der beiden Patientengruppen wurden mit Hilfe des T-Testes auf Vergleichbarkeit untersucht.
Da die Laborparameter nicht normalverteilt waren, wurden nicht-parametrische Tests für deren Auswertung verwendet. Zum Vergleich der Messwerte zu den verschiedenen Zeitpunkten innerhalb der einzelnen Gruppen wurde der Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben angewandt.
Um die beiden Gruppen untereinander zu vergleichen wurde der Mann-Whitney-U-Test durchgeführt.
Der Unterschied zwischen zwei Parametern wurde als signifikant betrachtet, wenn der p-Wert $< 0{,}05$ war. Für die Auswertung wurde das Programm SPSS (IBM SPSS Statistics 22) benutzt.

3. Auswertung der Ergebnisse

3.1. Charakterisierung des Patientenkollektivs

Die beiden Studiengruppen waren hinsichtlich ihres Alters, der Vorerkrankungen und ihrer Medikation vergleichbar. Es zeigte sich lediglich ein Unterschied bei der Verteilung der Geschlechter, wobei in der Rivaroxaban Gruppe 84 % der Patienten männlich waren, während in der Apixaban Gruppe 54 % männlich waren (siehe Tabellen 2, 3, Seite 70, 71).
Die routinemäßig durchgeführten Labortests zeigten ebenfalls keine Unterschiede zwischen den beiden Gruppen (siehe Tabelle 4, Seite 72).
Zusätzlich wurden die Komplikationen während des Klinikaufenthaltes untersucht (siehe Tabelle 5, Seite 73). Es kam in beiden Gruppen zu keinen schweren Blutungskomplikationen, thromboembolischen Komplikationen oder Todesfällen. Es traten 3 Perikardergüsse in der Apixaban Gruppe auf, welche alle keiner Intervention bedurften. In der Rivaroxaban Gruppe trat ein Leistenhämatom von mehr als 5 mm Durchmesser auf, wobei ebenfalls keine Intervention notwendig war. Insgesamt entspricht dies einer Rate von 11 % leichter Komplikationen.

3.2. Globaltests

Die Ergebnisse der Messungen sind in Tabelle 6, Seite 74, dargestellt.
In der Rivaroxaban-Gruppe ergab sich eine hochsignifikante Änderung ($p < 0{,}001$) der TPZ und des INR sowohl 2 Stunden als auch 6 Stunden nach Medikamenteneinnahme verglichen mit den Werten vor Medikamenteneinnahme, wobei sich ein Trend zur Abnahme der Werte nach 6 Stunden zeigte.
In der Apixaban-Gruppe zeigte sich eine signifikante Änderung der Werte der TPZ beim Vergleich der Baseline-Werte mit den Werten nach 2 und nach 6 Stunden ($p < 0{,}05$). Für den INR war sowohl nach 2 Stunden ($p < 0{,}05$) als auch nach 6 Stunden ($p < 0{,}01$) ein signifikanter Anstieg zu beobachten.

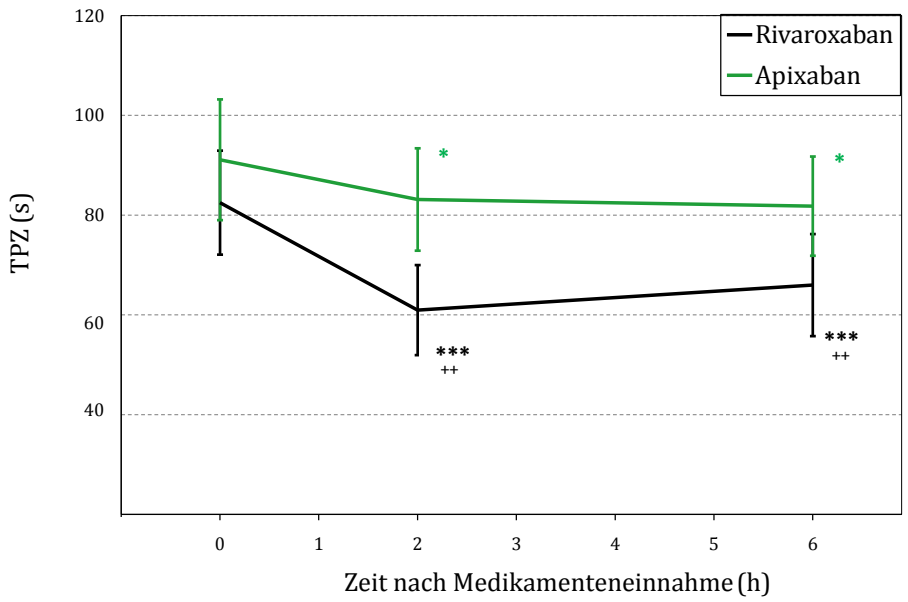

Abbildung (5) *Thromboplastinzeit vor Medikamenteneinnahme, 2 Stunden und 6 Stunden nach Einnahme von Rivaroxaban bzw. Apixaban*
**: $p < 0{,}05$ versus baseline; **: $p < 0{,}01$ versus baseline; ***: $p < 0{,}001$ versus baseline*
+ : $p < 0{,}05$ versus Apixaban; ++ : $p < 0{,}01$ versus Apixaban; +++ : $p < 0{,}001$ versus Apixaban

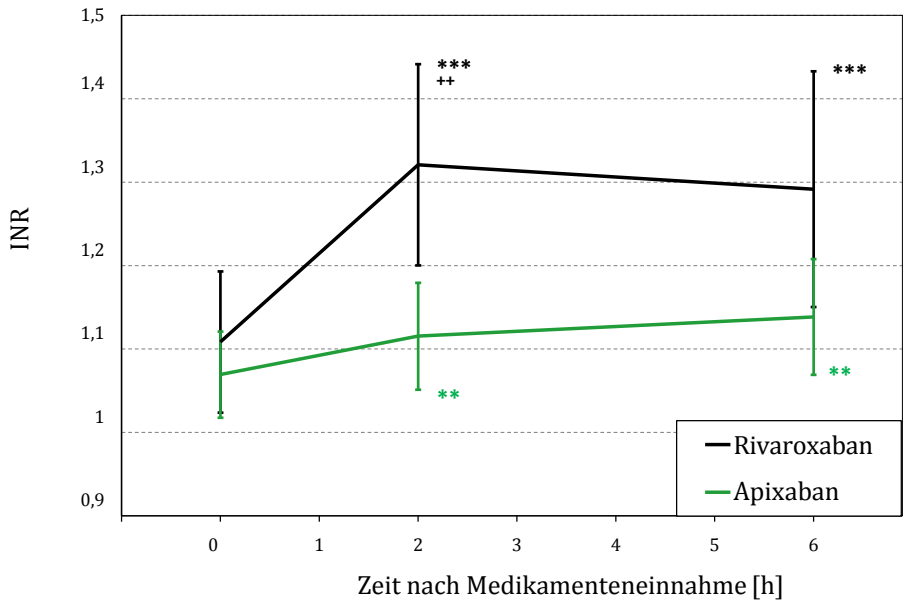

Abbildung (6) *INR vor Medikamenteneinnahme, 2 Stunden und 6 Stunden nach Einnahme von Rivaroxaban bzw. Apixaban*
**: p < 0,05 versus baseline; **: p < 0,01 versus baseline; ***: p < 0,001 versus baseline*
+ : p < 0,05 versus Apixaban; ++ : p < 0,01 versus Apixaban; +++ : p < 0,001 versus Apixaban

Die Messungen der aPTT der Rivaroxaban Gruppe zeigten hochsignifikante Änderungen 2 bzw. 6 Stunden nach Einnahme der Medikation im Vergleich zur Baseline-Messung ($p < 0{,}001$), wobei auch hier ein Trend zur Abnahme der Werte nach 6 Stunden zu beobachten war.
Auch in der Apixaban-Gruppe stieg die aPTT zu beiden Abnahmezeiten signifikant gegenüber der Baseline ($p < 0{,}01$)an.
Beim Vergleich der beiden Gruppen untereinander zeigte sich ein signifikanter Unterschied der Messwerte für die TPZ ($p < 0{,}01$ nach 2 Stunden, $p < 0{,}05$ nach 6 Stunden), den INR ($p < 0{,}01$ nach 2 Stunden) und die aPTT ($p < 0{,}001$ nach 2 Stunden, $p = 0{,}001$ nach 6 Stunden).

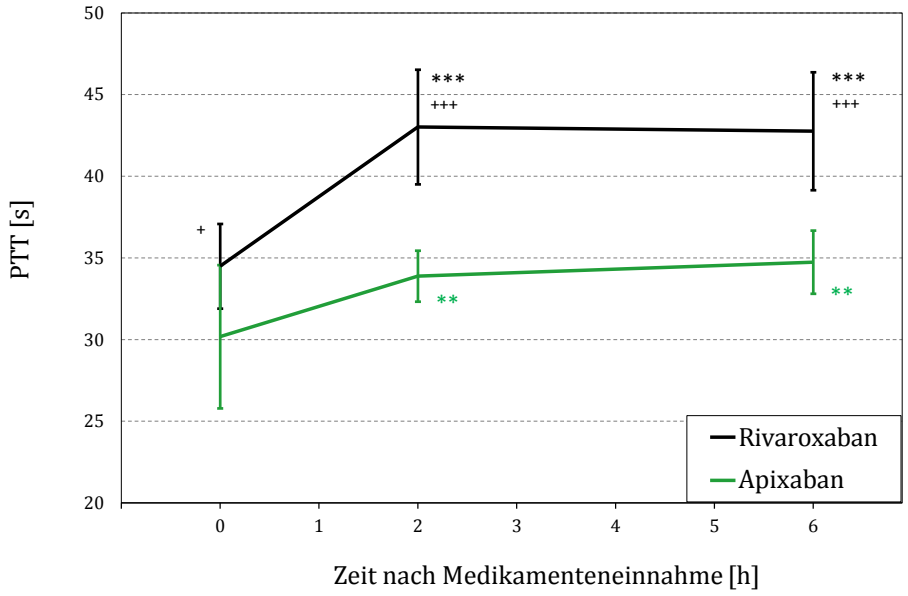

Abbildung (7) *Partielle Thromboplastinzeit vor Medikamenteneinnahme, 2 Stunden und 6 Stunden nach Einnahme von Rivaroxaban bzw. Apixaban*
**: p < 0,05 versus baseline; **: p < 0,01 versus baseline; ***: p < 0,001 versus baseline*
+ : p < 0,05 versus Apixaban; ++ : p < 0,01 versus Apixaban; +++ : p < 0,001 versus Apixaban

3.3. Anti-Faktor Xa-Spiegel

Die Messungen der anti-Faktor Xa-Aktivität sind in Tabelle 7, Seite 75 gezeigt. In beiden Gruppen kam es zu einem hochsignifikanten Anstieg der anti-Faktor Xa-Aktivität beim Vergleich der Baseline-Werte mit den Werten nach 2 bzw. 6 Stunden ($p < 0{,}001$). Dabei ist auch ein Abfall der Werte nach 6 Stunden im Vergleich zu den Werten nach 2 Stunden zu beobachten. Die beiden Gruppen zeigten im Vergleich untereinander keine signifikanten Unterschiede.

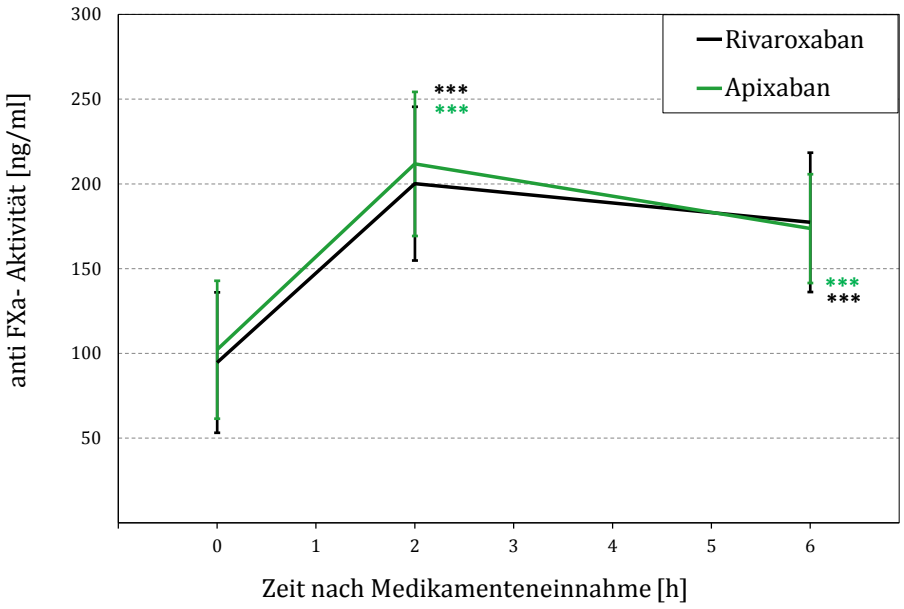

Abbildung (8) *anti-Faktor Xa-Aktivität vor Medikamenteneinnahme, 2 Stunden und 6 Stunden nach Einnahme von Rivaroxaban bzw. Apixaban*
**: $p < 0{,}05$ versus baseline; **: $p < 0{,}01$ versus baseline; ***: $p < 0{,}001$ versus baseline*
+ : $p < 0{,}05$ versus Apixaban; ++ : $p < 0{,}01$ versus Apixaban; +++ : $p < 0{,}001$ versus Apixaban

3.4. Gerinnungsparameter

3.4.1. Spezifische Gerinnungstests

Die Messungen der spezifischen Gerinnungstests sind in Tabelle 8, Seite 76 und 77 dargestellt.
Die Bestimmung des CATPeaks bei der Thrombingenerierung zeigte in der Rivaroxaban Gruppe einen hochsignifikanten Abfall der Werte, sowohl beim Vergleich der Werte vor Medikamenteneinnahme mit den Werten nach 2 Stunden ($p < 0{,}001$), als auch mit den Werten nach 6 Stunden ($p < 0{,}001$). Die Bestimmung des CATPeaks zeigte in der Apixaban Gruppe einen signifikanten Abfall im Vergleich zur Baseline zu beiden Abnahmezeitpunkten ($p < 0{,}05$).

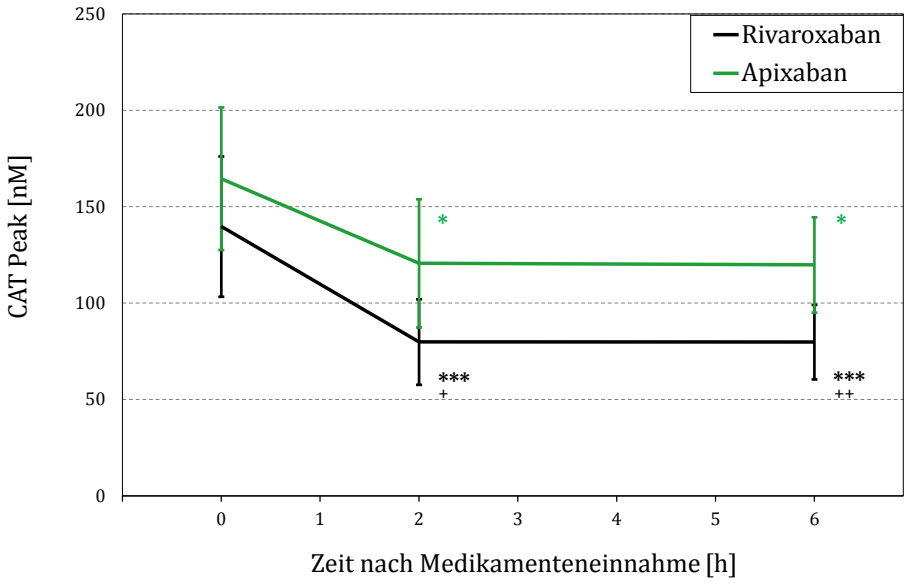

Abbildung (9) *CATPeak vor Medikamenteneinnahme, 2 Stunden und 6 Stunden nach Einnahme von Rivaroxaban bzw. Apixaban*
**: p < 0,05 versus baseline; **: p < 0,01 versus baseline; ***: p < 0,001 versus baseline*
+ : p < 0,05 versus Apixaban; ++ : p < 0,01 versus Apixaban; +++ : p < 0,001 versus Apixaban

Die Berechnung des ETP-Wertes in der Rivaroxaban Gruppe zeigte eine signifikante Änderung ($p < 0{,}05$) beim Vergleich der Werte nach 2 Stunden zur Baseline und keine signifikante Veränderung beim Vergleich der Werte nach 6 Stunden zur Baseline.
Der ETP-Wert in der Apixaban Gruppe änderte sich signifikant ($p < 0{,}05$) beim Vergleich der Werte nach 2 Stunden zur Baseline. Dagegen zeigte sich keine signifikante Änderung beim Vergleich mit den Werten nach 6 Stunden.

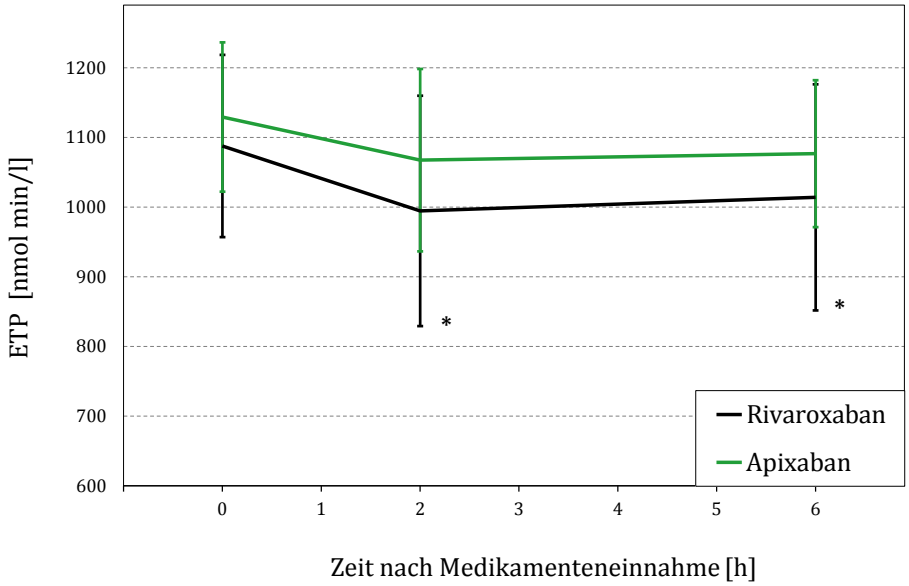

Abbildung (10) *ETP vor Medikamenteneinnahme, 2 Stunden und 6 Stunden nach Einnahme von Rivaroxaban bzw. Apixaban*
**: $p < 0{,}05$ versus baseline; **: $p < 0{,}01$ versus baseline; ***: $p < 0{,}001$ versus baseline*
+ : $p < 0{,}05$ versus Apixaban; ++ : $p < 0{,}01$ versus Apixaban; +++ : $p < 0{,}001$ versus Apixaban

Der AT III-Aktivität zeigte nach 2 Stunden einen hochsignifikanten Anstieg ($p < 0{,}001$). Auch nach 6 Stunden war der Wert im Vergleich zur Baseline erhöht ($p < 0{,}01$).
Auch in der Apixaban-Gruppe stieg der AT III-Aktivität im Vergleich zur Baseline signifikant an ($p < 0{,}01$ für Baseline versus 2 Stunden, $p < 0{,}05$ für Baseline

versus 6 Stunden).

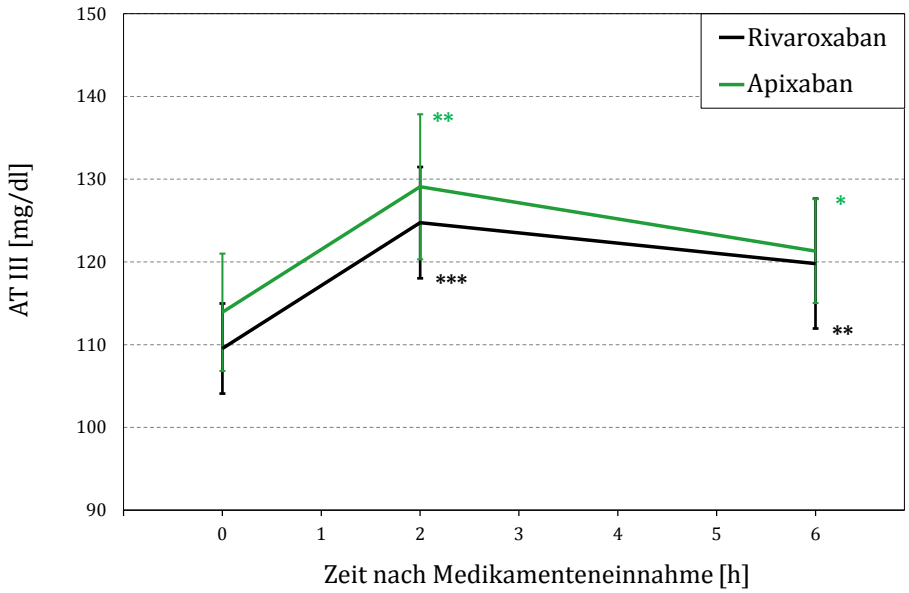

Abbildung (11) *Antithrombin III-Aktivität vor Medikamenteneinnahme, 2 Stunden und 6 Stunden nach Einnahme von Rivaroxaban bzw. Apixaban*
**: p < 0,05 versus baseline; **: p < 0,01 versus baseline; ***: p < 0,001 versus baseline*
+ : p < 0,05 versus Apixaban; ++ : p < 0,01 versus Apixaban; +++ : p < 0,001 versus Apixaban

Bei den Messungen des Fibrinogen-Spiegels, der D-Dimere, der Prothrombinfragmente F1+F2, des Faktor VII und VIIa und der TAT-Komplexe ergaben sich in beiden Gruppen keine signifikanten Veränderungen beim Vergleich der Werte der verschiedenen Zeitpunkte.
Beim Vergleich der beiden Gruppen untereinander zeigte sich ein signifikanter Unterschied des CATPeaks ($p < 0.05$ nach 2 Stunden, $p = 0{,}01$ nach 6 Stunden). Außerdem ergab sich ein signifikanter Unterschied der Faktor VII-Konzentration, wobei Faktor VII in der Apixaban-Gruppe sowohl vor Einnahme der Medikation als auch 6 Stunden nach Einnahme, signifikant höher war als in der Rivaroxaban-Gruppe.
Für alle übrigen Werte zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

3.4.2. Thrombelastogramm

Die Ergebnisse der ROTEM®-Analyse sind in Tabelle 9, Seite 78 und 79 dargestellt.
Bei den Messungen in der Rivaroxaban-Gruppe war die CT nach Zugabe von EXTEM zur Gerinnungsaktivierung sowohl 2 Stunden ($p < 0{,}01$) als auch 6 Stunden nach Medikamenteneinnahme ($p < 0{,}01$) signifikant verlängert.
In der Apixaban-Gruppe war die CT nach Zugabe von EXTEM beim Vergleich der Werte 2 Stunden nach Medikamenteneinnahme mit denen vor Medikamenteneinnahme signifikant ($p < 0{,}05$) verlängert. Beim Vergleich der Werte vor Medikamenteneinnahme und 6 Stunden danach zeigte sich kein signifikanter Unterschied.

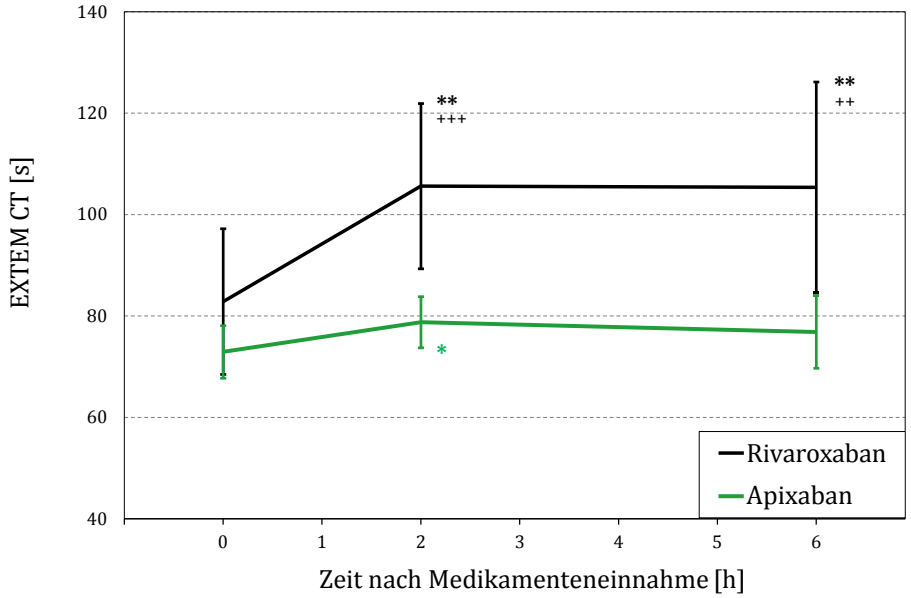

Abbildung (12) *Clotting Time bei Gerinnungsaktivierung durch EXTEM vor Medikamenteneinnahme, 2 Stunden und 6 Stunden nach Einnahme von Rivaroxaban bzw. Apixaban*
**: $p < 0{,}05$ versus baseline; **: $p < 0{,}01$ versus baseline; ***: $p < 0{,}001$ versus baseline*
+ : $p < 0{,}05$ versus Apixaban; ++ : $p < 0{,}01$ versus Apixaban; +++ : $p < 0{,}001$ versus Apixaban

Nach Einnahme von Rivaroxaban zeigten die CFT, der alpha-Winkel und die MCF, bei Gerinnungsaktivierung durch EXTEM, keine signifikanten Veränderungen.
In der Apixaban Gruppe dagegen waren bei den Messungen der CFT und des alpha-Winkels nach Gerinnungsaktivierung durch EXTEM signifikante Änderungen zu beobachten. Die Werte 2 Stunden nach Einnahme von Apixaban verglichen mit denen vor Einnahme zeigten signifikante Unterschiede ($p < 0{,}05$), während der Vergleich mit den Werten 6 Stunden nach Einnahme keinen signifikanten Unterschied zeigte.
Die MCF (Maximal Clot Firmness) nach Zugabe von EXTEM zeigte stets keine signifikante Änderung.

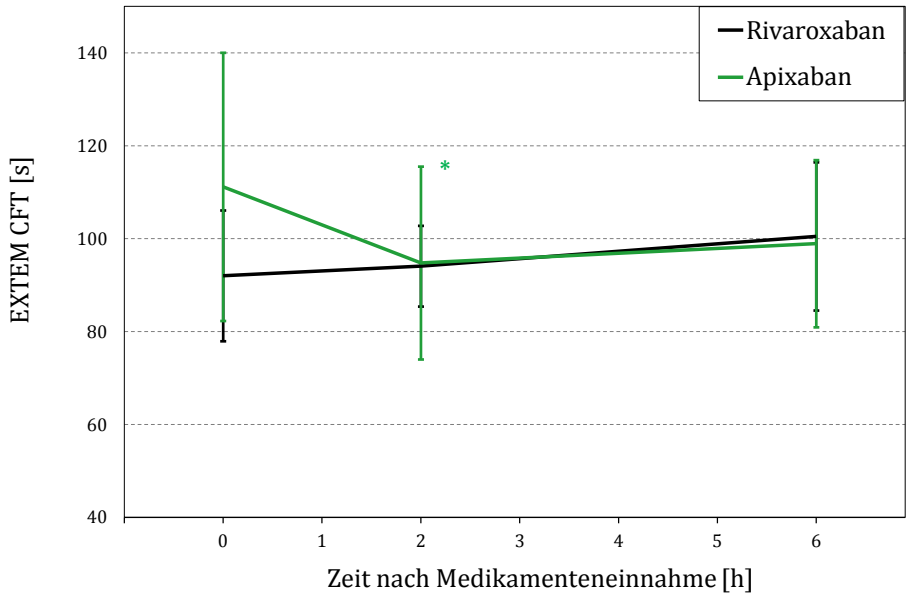

Abbildung (13) *Clot Formation Time bei Gerinnungsaktivierung durch EXTEM vor Medikamenteneinnahme, 2 Stunden und 6 Stunden nach Einnahme von Rivaroxaban bzw. Apixaban*
**: $p < 0{,}05$ versus baseline; **: $p < 0{,}01$ versus baseline; ***: $p < 0{,}001$ versus baseline*
+ : $p < 0{,}05$ versus Apixaban; ++ : $p < 0{,}01$ versus Apixaban; +++ : $p < 0{,}001$ versus Apixaban

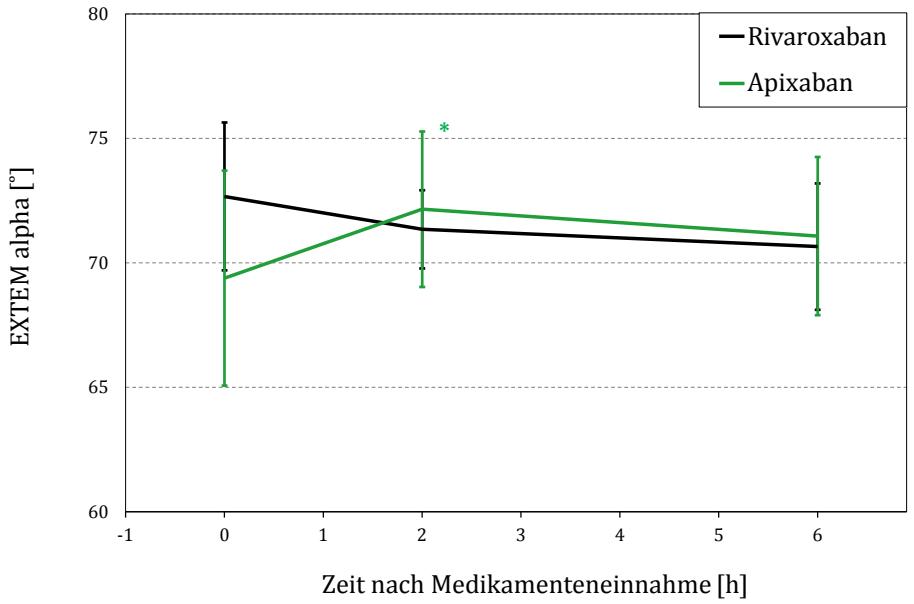

Abbildung (14) *alpha-Winkel bei Gerinnungsaktivierung durch EXTEM vor Medikamenteneinnahme, 2 Stunden und 6 Stunden nach Einnahme von Rivaroxaban bzw. Apixaban*
**: p < 0,05 versus baseline; **: p < 0,01 versus baseline; ***: p < 0,001 versus baseline*
+ : p < 0,05 versus Apixaban; ++ : p < 0,01 versus Apixaban; +++ : p < 0,001 versus Apixaban

Nach Aktivierung der Gerinnung durch die Zugabe von INTEM war die CT beim Vergleich der Ergebnisse vor Einnahme von Rivaroxaban mit den Ergebnissen 2 Stunden und 6 Stunden nach Einnahme hochsignifikant ($p < 0{,}001$)verlängert. Die CFT, der alpha-Winkel und die MCF waren auch hier 2 Stunden und 6 Stunden nach Einnahme von Rivaroxaban nicht signifikant verändert.
In der Apixaban Gruppe zeigte sich ein signifikanter Anstieg der CT beim Vergleich vor Einnahme und nach 6 Stunden ($p < 0{,}01$). Bei den Messungen 2 Stunden nach Apixaban-Einnahme war dieser signifikante Anstieg noch nicht zu beobachten.
Die Analyse der CFT, des alpha-Winkels und der MCF nach Zugabe von INTEM ergaben keine signifikanten Veränderungen im Verlauf der Zeit nach Einnahme von Apixaban.

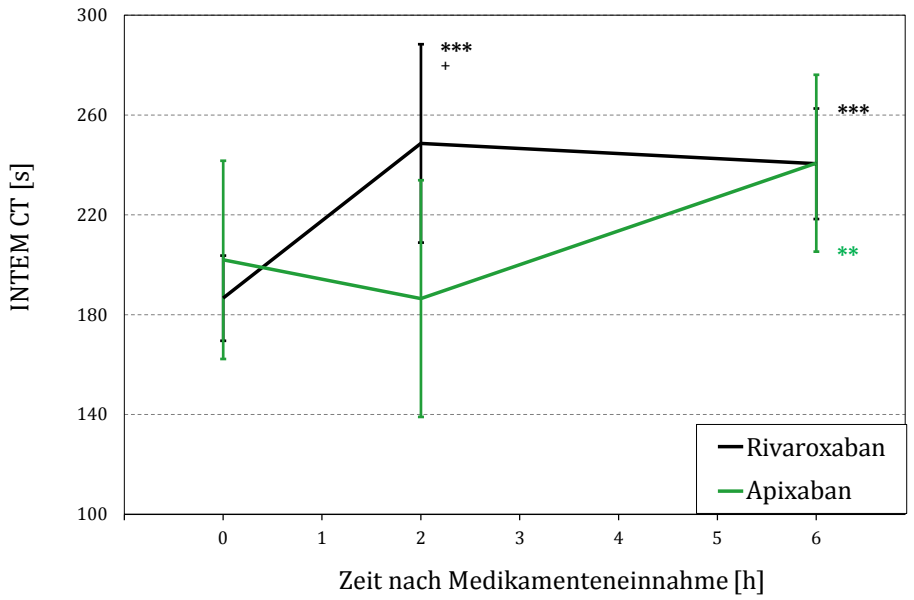

Abbildung (15) *Clotting Time bei Gerinnungsaktivierung durch INTEM vor Medikamenteneinnahme, 2 Stunden und 6 Stunden nach Einnahme von Rivaroxaban bzw. Apixaban*
**: p < 0,05 versus baseline; **: p < 0,01 versus baseline; ***: p < 0,001 versus baseline*
+ : p < 0,05 versus Apixaban; ++ : p < 0,01 versus Apixaban; +++ : p < 0,001 versus Apixaban

Beim Vergleich der beiden Gruppen untereinander zeigte sich ein signifikanter Unterschied der CT bei EXTEM nach 2 Stunden (p = 0,001) und nach 6 Stunden (p = 0,01). Auch der Vergleich der Werte der CT bei INTEM zeigte einen signifikanten Unterschied nach 2 Stunden (p = 0,02), während dieser nach 6 Stunden keinen signifikanten Unterschied mehr zeigte.
Bei allen übrigen Messungen waren keine signifikanten Unterschiede der beiden Gruppen zu beobachten.

3.5. Thrombozytenfunktionstests

Um die Thrombozytenfunktion zu analysieren wurden Multiplate Tests durchgeführt (siehe Tabelle 10, Seite 80).
Dabei zeigte sich sowohl in der Rivaroxaban- als auch in der Apixaban-Gruppe in keinem der Tests eine signifikante Änderung beim Vergleich der Werte vor und 2 Stunden nach Medikamenteneinnahme. Es ergab sich in beiden Gruppen auch keine signifikante Veränderung beim Vergleich der Werte vor Medikamenteneinnahme und 6 Stunden danach. Auch der Vergleich der beiden Gruppen untereinander zeigte keine signifikanten Unterschiede.
Zur weiteren Untersuchung der Thrombozytenaktivierung wurden Stoffe untersucht, welche bei der Plättchenaktivierung von diesen sezerniert werden (siehe Tabelle 11, Seite 81). Dabei zeigte sich in beiden Gruppen kein signifikanter Unterschied der Messungen vor Einnahme der Medikation verglichen mit den Werten 2 bzw. 6 Stunden nach Einnahme. Auch hier wurde ein Vergleich der Werte beider Gruppen untereinander durchgeführt. Dieser zeigte ebenfalls keine signifikanten Unterschiede der Messergebnisse.

4. Diskussion

4.1. Zusammenfassung der Ergebnisse

Die im vorangegangenen Kapitel dargestellten Ergebnisse der Studie sind in nachfolgender Auflistung zusammenfassend aufgeführt:

- Die beiden Faktor Xa-Inhibitoren haben unterschiedliche Auswirkungen auf die Globaltests.
  - Beide Medikamente haben Einfluss auf die Ergebnisse der Globaltests (TPZ, INR und aPTT).
  - Rivaroxaban führt zu einer signifikant größeren Veränderung der Globaltests (TPZ, INR und aPTT) als Apixaban.
- Um die Wirkung der beiden Medikamente zu quantifizieren ist die Bestimmung der Anti-Faktor Xa-Aktivität am besten geeignet.
- Beide Medikamente zeigen Einfluss auf die Thrombingenerierung.
- Die Wirkung der Medikamente auf die Thrombelastometrie ist analog zur Wirkung auf die Globaltests.
- Alle übrigen Gerinnungsparameter werden durch keinen der Faktor Xa-Inhibitoren beeinflusst.
- Durch keines der beiden Medikamente kommt es zu einer Beeinflussung der Thrombozytenfunktion.

4.2. Beeinflussung der Globaltests durch die Faktor Xa-Inhibitoren

Ein großer Vorteil der Neuen Oralen Antikoagulantien gegenüber den bislang meist eingesetzten Vitamin K-Antagonisten, ist die Tatsache, dass sie keines Monitorings bedürfen [5][4].
Jedoch kommt es durch den immer häufigeren Einsatz der NOAKs und die Zunahme der Indikationen, öfter zu Situationen im klinischen Alltag, in denen eine Einschätzung der Gerinnungssituation vonnöten ist [21, 27]. Gerade im Notfall wäre ein schneller, kostengünstiger und einfach durchzuführender Labortest wünschenswert, um die Wirkung der NOAKs einschätzen zu können.
Diese Voraussetzungen erfüllen die Globaltests, TPZ und aPTT, da sie in nahezu allen Laboren routinemäßig eingesetzt werden.

4.2.1. Rivaroxaban

Douxfils et al. führten eine *in vitro* Studie durch, bei der gepooltes Plasma mit verschiedenen Konzentrationen Rivaroxaban versetzt wurde und in diesen Proben die TPZ mit verschiedenen Reagenzien gemessen wurde [20]. Dabei zeigte sich eine lineare Korrelation der TPZ mit der Medikamentenkonzentration [20]. Allerdings unterschied sich die Genauigkeit der Messergebnisse signifikant zwischen den verschiedenen eingesetzten Reagenzien [20]. Diese Ergebnisse konnten von anderen ähnlich konzipierten Studien bestätigt werden [35, 36, 50, 55, 65, 70].
In einer von E. Eerenberg et al. durchgeführten Studie wurde gesunden Männern über mehrere Tage Rivaroxaban verabreicht und daraufhin die TPZ im Vergleich zur Baseline gemessen [22]. Dabei zeigte sich ein signifikanter Abfall der TPZ beim Vergleich vor und nach Medikamenteneinnahme [22].
In der vorliegenden Studie wurde der Einfluss von Rivaroxaban auf die Globaltests *in vivo* getestet, wobei dies vor Medikamenteneinnahme und zu zwei festgelegten Zeitpunkten nach Medikamenteneinnahme geschah, also verschiedene Medikamentenkonzentrationen vorlagen. Es konnte gezeigt werden, dass

die TPZ 2 Stunden nach Einnahme von Rivaroxaban, also zum Zeitpunkt der maximalen Plasmakonzentration, im Vergleich zur TPZ vor der Einnahme signifikant abfällt. Es zeigte sich ein Trend zu einem Anstieg der TPZ 6 Stunden nach Einnahme im Vergleich zu den Werten nach 2 Stunden.
Diese Ergebnisse unterstützen den Einsatz der TPZ zur Kontrolle der Gerinnungsfunktion bei Patienten, die eine Antikoagulation mit Rivaroxaban erhalten.
Auch für die INR-Werte konnte ein signifikanter Anstieg der Werte nach 2 und 6 Stunden im Vergleich zur Baseline, sowie ein Trend zur Abnahme der Werte zwischen 2 und 6 Stunden beobachtet werden.
Allerdings wurde die Berechnung des INR-Werts speziell für das Monitoring der Therapie mit Vitamin-K Antagonisten entwickelt, um eine Standardisierung zwischen verschiedenen TPZ-Reagenzien zu erreichen [25].
Vorangegangene Studien konnten zeigen, dass der INR-Wert zwar linear mit der Rivaroxaban-Konzentration korreliert, jedoch die hohe Variabilität zwischen den einzelnen Tests zur TPZ-Messung nicht ausgleichen kann [35, 65]. Es gibt bereits einige Versuche einen standardisierten Wert für Rivaroxaban, ähnlich dem INR für die VKA, zu bestimmen [71].
Neben der TPZ wurde auch die aPTT untersucht. Studien, in welchen *in vitro* Rivaroxaban gepooltem Blutplasma zugefügt wurde, zeigten zwar einen konzentrationsabhängigen Anstieg der aPTT, dieser war jedoch geringer und weniger sensitiv als die TPZ [20, 35].
Hillarp et al. hingegen konnten in einer, ebenfalls *in vitro* Studie, zeigen dass die aPTT stärker von Rivaroxaban beeinflusst wird als die TPZ, insbesondere wenn zur Messung der TPZ die Owren Methode eingesetzt wird [36].
Analog zu den Messungen der TPZ wurde in allen Studien auch bei den Messungen aPTT eine große Variabilität zwischen den verschiedenen Reagenzien beobachtet [35, 36]. Die aPTT zeigt in der hier vorliegenden Studie einen hochsignifikanten Anstieg 2 Stunden und 6 Stunden nach Medikation. Jedoch zeichnet sich kein Trend zum Abfall der Werte nach Erreichen der Maximalkonzentration ab.
Somit wird durch diese Resultate der vorzugsweise Einsatz der TPZ gegenüber der aPTT bestärkt.

4.2.2. Apixaban

Auch für Apixaban führten Douxfils et al. eine Studie durch, bei der gepooltes Plasma mit verschiedenen Konzentrationen des Medikamentes versetzt wurden und daraufhin die Änderung der Globaltests gemessen wurde [19]. Es zeigte sich dabei eine konzentrationsabhängige Verlängerung der PT und der aPTT [19]. Allerdings war keiner der Tests ausreichend sensitiv [19].
Die Messergebnisse variierten auch hier stark zwischen den verschiedenen Reagenzien. [19]
In einer anderen Studie, bei der gesunden Freiwilligen Apixaban verabreicht wurde, zeigte sich ebenfalls ein ungenügender Anstieg der Messwerte der aPTT und des INRs [26].
Auch in der hier vorliegenden Studie zeigt sich eine Verlängerung der PT, des INR und der aPTT beim Vergleich der Baseline mit den Werten nach 2 und nach 6 Stunden. Jedoch sind die Veränderungen schwächer ausgeprägt, als bei den Patienten mit Rivaroxaban-Einnahme. Außerdem zeigt sich nach Erreichen der Maximalkonzentration, welche nach 3-4 Stunden zu erwarten ist, kein Abfall der Werte.
Diese Ergebnisse lassen den Rückschluss zu, dass keiner der hier durchgeführten Globaltests ausreichend zur Analyse der Gerinnungssituation unter Apixaban beitragen kann.

4.3. Beeinflussung der anti-Faktor Xa-Aktivität

Da keine klinisch relevanten Metabolite der NOAK bekannt sind und die NOAK nur gegen ein Enzym gerichtet sind, kann über die Messung der anti-Faktor Xa-Aktivität die Konzentration von Rivaroxaban bzw. Apixaban bestimmt werden [27].
In der vorliegenden Studie wurde eine Analyse der anti-Faktor Xa-Aktivität für beide Medikamente jeweils unter Verwendung eines spezifischen Kallibrators durchgeführt. Hierbei zeigt sich sowohl bei Apixaban als auch bei Rivaroxaban ein hochsignifikanter Anstieg 2 und 6 Stunden nach Einnahme, sowie ein Trend zur Abnahme der Aktivität beim Vergleich der Werte nach 2 und nach 6 Stunden. Damit bestätigt dies die Ergebnisse anderer Studien, die eine hohe Sensitivität dieser Messmethode feststellten [19, 20, 35, 51, 55]. Darüber hinaus besteht eine geringe Variabilität der Messergebnisse verschiedener Tests und verschiedener Labore, sofern diese einen für das jeweilige Medikament geeigneten Kallibrator verwenden [20, 35]. Die anti-Faktor Xa-Aktivität stellt somit das beste derzeit bekannte Verfahren zur genauen Messung der Konzentration von Rivaroxaban und Apixaban dar und wird daher zur genauen Konzentrationsbestimmung empfohlen [9, 73].
Die Einschränkung dieser Messverfahren besteht allerdings darin, dass die meisten Reagenzien sensitiv für Heparine und Fondaparinux sind und es dadurch bei paralleler Gabe mehrere Wirkstoffe zu Beeinflussung des Tests kommen kann [20]. Weitere Nachteile dieses Testes sind die hohen Kosten, die schwierige Verfügbarkeit im Notfall und die hohen Anforderungen an das durchführende Laborpersonal [51].

4.4. Einfluss auf spezifische Gerinnungstests

4.4.1. Thrombingenerierung

Die Thrombingenerierung stellt den gesamten Gerinnungsablauf, auch über den Zeitpunkt der Fibrinogenbildung hinaus, quantitativ dar und gibt somit einen guten Überblick, welche Abschnitte der Gerinnung durch die NOAK inhibiert werden [28].
In einer *in vitro* Studie, bei der Plasma gesunder Spender mit verschiedenen Konzentrationen Rivaroxaban versetzt wurde, zeigte sich mit steigender Rivaroxabankonzentration eine zunehmende Verzögerung des Beginns der Thrombinbildung (lag-Time), sowie eine Abnahme der maximalen Thrombinkonzentration (CATPeak) und des gesamten, über die Zeit gebildeten Thrombins (ETP) [28]. Diese Ergebnisse wurden von anderen Studien auch für Apixaban bestätigt [19, 20, 55, 72]. In der hier diskutierten Studie zeigte sich unter der Antikoagulation mit Rivaroxaban eine hochsignifikante Abnahme des CATPeaks 2 und 6 Stunden nach Einnahme der Medikation, für Apixaban jeweils eine signifikante Abnahme des CATPeaks. Außerdem war bei beiden Medikamenten ein signifikanter Abfall der ETP 2 Stunden nach Medikamteneinnahme sowie ein Wiederanstieg des Wertes nach 6 Stunden zu beobachten, so dass dieser im Vergleich zum Wert vor Medikamenteneinnahme keinen signifikanten Unterschied aufwies.
Somit unterstützt diese Studie die Annahme, dass Faktor Xa-Inhibitoren bei *ex vivo* Thrombinbildung einen starken Effekt auf den CATPeak haben, während die Gesamtmenge des Thrombins weniger stark beeinflusst wird [19, 20, 55]. Ein möglicher Erklärungsansatz dafür ist, dass Rivaroxaban und Apixaban den Thrombin-abhängigen Feedbackmechanismus hemmen, welcher zu einer Aktivierung von Faktor XI und somit zum Wachstum des Thrombus führt [80].
Diese Ergebnisse zeigen, dass die Thrombingenerierung ein Test zum Monitoring der Faktor Xa-Inhibitoren darstellen könnte, jedoch ist dies derzeit im klinischen Alltag aufgrund des hohen Zeitaufwandes, der fehlenden Standardisierung und der mangelnden Verfügbarkeit der Geräte in weniger spezialisierten Laboren nicht umsetzbar [20, 55].

4.4.2. Fibrinogenspiegel, Antithrombin III und D-Dimere

Der Fibrinogenspiegel, gemessen mit der Methode nach Clauss, wurde von keinem der beiden Medikamente beeinflusst. Dieses Ergebnis ist analog zu den Ergebnissen von *in vitro* Studien [19, 36].
Der Antithrombin III-Spiegel zeigte in dieser Studie bei beiden Medikamenten eine signifikante Änderung der Werte beim Vergleich zur Baseline. Dies ist auf die Tatsache zurückzuführen, dass die angewandte Messmethode Faktor Xa-basiert ist, und es somit in Anwesenheit von Faktor Xa-Inhibitoren zu einer Beeinflussung der Messungen durch diese kommt. Andere Studien, bei denen ein auf Thrombin basierender Test eingesetzt wurde, kamen zu dem Ergebnis, dass weder Apixaban noch Rivaroxaban die Ergebnisse beeinflussen [19, 36].
Auch die Konzentration der D-Dimere und der Prothrombinfragmente F1+F2 wurde durch keines der Medikamente beeinflusst, wie auch schon in anderen Studien *in vitro* beschrieben wurde [52].

4.4.3. Faktor VII und Faktor VIIa

Im Gegensatz zur Konzentration von Faktor VIIa, war die Konzentration von Faktor VII in der Apixaban-Gruppe signifikant höher als in der Rivaroxaban-Gruppe. Dies führt zu der Vermutung, dass Rivaroxaban an Faktor VII bindet und diese Bindung, die Detektion im ELISA beeinflusst. Apixaban bindet mit seinem P1-Anteil in die S1-Tasche und mit dem P4-Anteil in die S4-Tasche von Faktor Xa [81].
Auch Rivaroxaban bindet über die S1- und S4-Tasche an Faktor Xa, die genaue Lokalisation und Art der Bindung innerhalb der Tasche sind jedoch unterschiedlich [60, 81].
Faktor VII besitzt ähnlich konfigurierte Bindungsstellen wie Faktor Xa [67]. Somit sind die ähnlichen Bindungsstellen von Faktor Xa und Faktor VII eine mögliche Erklärung für die Messergebnisse.

4.4.4. Thrombelastometrie

Die ROTEM®-Analyse zeigte bei Einsatz von EXTEM zur Gerinnungsaktivierung eine signifikante Änderung der Messwerte für die CT gegenüber dem Ausgangswert bei beiden Gruppen. Zu diesen Ergebnissen kam auch eine kürzlich durchgeführte Studie von L. Omert et al.[18]. Im EXTEM-Reagenz ist TF enthalten, wodurch es zu einer Aktivierung des extrinsischen Systems kommt. Die Messungen der CT unter Aktivierung durch EXTEM entsprechen also dem Prinzip der TPZ-Messung, wodurch sich der sehr ähnliche Kurvenverlauf erklärt [14].
Die Zugabe von INTEM-Reagenz bewirkt eine Aktivierung des intrinsischen Systems. Somit ist das Prinzip der Messungen der CT bei INTEM den Messungen der aPTT [14]ähnlich. Damit erklärt sich auch in diesem Fall der gleichartige Kurvenverlauf dieser beiden Messungen.
Wie schon in einer Studie von M. Casutt et al., gab es auch in dieser Studie Patienten, bei denen für die CT nach Einnahme der Medikation normale Werte gemessen wurden [14]. Damit sind die Messungen mithilfe der Thrombelastometrie nicht geeignet die Gerinnungssituation unter Faktor Xa-Inhibitoren ausreichend darzustellen [23].

4.5. Thrombozytenfunktion

Wegen des zunehmenden Einsatzes der Faktor Xa-Inhibitoren bei der Behandlung des ACS in Kombination mit Thrombozytenaggregationshemmern, ist es von großer Bedeutung zu wissen, ob und gegebenenfalls inwiefern Faktor Xa-Inhibitoren die Thrombozytenaktivierung beeinflussen. Hierzu gibt es bislang nur wenig Daten.
In der vorliegenden Arbeit wurde keiner der getesteten Marker der Thrombozytenaktivierung von Rivaroxaban oder Apixaban beeinflusst. Auch eine *in vitro* Studien konnte keinen Effekt therapeutischer Dosen der Faktor Xa-Inhibitoren auf die Thrombozytenaktivierung nachweisen [23].
Da in dieser Studie keine Patienten mit ACS eingeschlossen waren, ist unklar, ob stärker aktivierte Thrombozyten, wie sie beim ACS vorkommen, von den Faktor Xa-Inhibitoren beeinflusst werden.

5. Zusammenfassung

Die Ergebnisse dieser Studie legen dar, wie sich die Antikoagulation mit Faktor Xa-Inhibitoren *in vivo* auf die Gerinnungsdiagnostik auswirkt und zeigen mögliche Ansätze auf, wie die Gerinnungssituation unter Apixaban bzw. Rivaroxaban überprüft werden kann.
Hierbei wird deutlich, dass der beste Test zur quantitativen Einschätzung der Gerinnungshemmung durch die Faktor Xa-Inhibioren die anti-Faktor Xa Spiegelbestimmung ist. Die Messungen sind allerdings im Notfall nicht schnell genug verfügbar und an kleinen Kliniken aufgrund der hohen Kosten und der hohen Anforderungen an das Personal nur schwer durchführbar.
Bei den Messungen der Globaltests, welche in allen Laboren zu den Standarduntersuchungen zählen, ist für die Darstellung der Gerinnungssituation unter Rivaroxaban die Messung der TPZ am besten geeignet. Jedoch wäre hier eine Standardisierung, analog zur INR Bestimmung für Vitamin K-Antagonisten wünschenswert.
Für Apixaban zeigt die Studie ebenfalls die besten Ergebnisse bei der Messung der TPZ.
Allerdings scheint eine valide Darstellung der Gerinnungssituation unter Apixaban generell schwerer möglich zu sein als unter Rivaroxaban. Davon ausgenommen ist die anti-Faktor Xa Spiegelbestimmung, welche für beide Medikamente vergleichbar gute Ergebnisse zeigte.
Für beide Medikamente zeigt außerdem die Thrombingenerierung gute Ergebnisse, jedoch gibt es bislang keine Standardisierung der Methode und sie wird nur in speziellen Labors eingesetzt.
Die zusätzliche Indikation für Rivaroxaban zum Einsatz bei ACS, wirft die Frage auf, ob der Wirkstoff auch die Thrombozytenfunktion beeinflusst. Die Thrombozytenaktivität wurde in diesem Kollektiv durch die beiden Medikamente nicht verringert. Allerdings bedarf dies weiterer Untersuchungen, beispielsweise bei Patienten mit ACS, da in dieser Situation eine höhere Aktivierung der Thrombozyten vorliegt.

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Thrombozytenaktivierung (modifiziert nach Rassow et al.: Duale Reihe Biochemie. 1. Auflage, Thieme-Verlag, Stuttgart 2006) 4

Abb. 2: Gerinnungskaskade (modifiziert nach Rassow et al.: Duale Reihe Biochemie. 1. Auflage, Thieme-Verlag, Stuttgart 2006) 8

Abb. 3: Beispiel einer Multiplate®Messung aus der Gruppe der Rivaroxaban-Patienten 23

Abb. 4: Thrombelastometrie Quelle: https://www.rotem.de/methodik/rotem-analyse/ 25

Abb. 5: Thromboplastinzeit vor Medikamenteneinnahme, 2 Stunden und 6 Stunden nach Einnahme von Rivaroxaban bzw. Apixaban
*: $p < 0{,}05$ versus baseline; **: $p < 0{,}01$ versus baseline; ***: $p < 0{,}001$ versus baseline
+ : $p < 0{,}05$ versus Apixaban; ++ : $p < 0{,}01$ versus Apixaban; +++ : $p < 0{,}001$ versus Apixaban 32

Abb. 6: INR vor Medikamenteneinnahme, 2 Stunden und 6 Stunden nach Einnahme von Rivaroxaban bzw. Apixaban
*: $p < 0{,}05$ versus baseline; **: $p < 0{,}01$ versus baseline; ***: $p < 0{,}001$ versus baseline
+ : $p < 0{,}05$ versus Apixaban; ++ : $p < 0{,}01$ versus Apixaban; +++ : $p < 0{,}001$ versus Apixaban 33

Abb. 7: Partielle Thromboplastinzeit vor Medikamenteneinnahme, 2 Stunden und 6 Stunden nach Einnahme von Rivaroxaban bzw. Apixaban
*: p < 0,05 versus baseline; **: p < 0,01 versus baseline; ***: p < 0,001 versus baseline
+ : p < 0,05 versus Apixaban; ++ : p < 0,01 versus Apixaban; +++ : p < 0,001 versus Apixaban 34
Abb. 8: anti-Faktor Xa-Aktivität vor Medikamenteneinnahme, 2 Stunden und 6 Stunden nach Einnahme von Rivaroxaban bzw. Apixaban
*: p < 0,05 versus baseline; **: p < 0,01 versus baseline; ***: p < 0,001 versus baseline
+ : p < 0,05 versus Apixaban; ++ : p < 0,01 versus Apixaban; +++ : p < 0,001 versus Apixaban 35
Abb. 9: CATPeak vor Medikamenteneinnahme, 2 Stunden und 6 Stunden nach Einnahme von Rivaroxaban bzw. Apixaban
*: p < 0,05 versus baseline; **: p < 0,01 versus baseline; ***: p < 0,001 versus baseline
+ : p < 0,05 versus Apixaban; ++ : p < 0,01 versus Apixaban; +++ : p < 0,001 versus Apixaban 36
Abb. 10: ETP vor Medikamenteneinnahme, 2 Stunden und 6 Stunden nach Einnahme von Rivaroxaban bzw. Apixaban
*: p < 0,05 versus baseline; **: p < 0,01 versus baseline; ***: p < 0,001 versus baseline
+ : p < 0,05 versus Apixaban; ++ : p < 0,01 versus Apixaban; +++ : p < 0,001 versus Apixaban 37
Abb. 11: Antithrombin III-Aktivität vor Medikamenteneinnahme, 2 Stunden und 6 Stunden nach Einnahme von Rivaroxaban bzw. Apixaban
*: p < 0,05 versus baseline; **: p < 0,01 versus baseline; ***: p < 0,001 versus baseline
+ : p < 0,05 versus Apixaban; ++ : p < 0,01 versus Apixaban; +++ : p < 0,001 versus Apixaban 38

Abb. 12: Clotting Time bei Gerinnungsaktivierung durch EXTEM vor Medikamenteneinnahme, 2 Stunden und 6 Stunden nach Einnahme von Rivaroxaban bzw. Apixaban
*: p < 0,05 versus baseline; **: p < 0,01 versus baseline; ***: p < 0,001 versus baseline
+ : p < 0,05 versus Apixaban; ++ : p < 0,01 versus Apixaban; +++ : p < 0,001 versus Apixaban 39
Abb. 13: Clot Formation Time bei Gerinnungsaktivierung durch EXTEM vor Medikamenteneinnahme, 2 Stunden und 6 Stunden nach Einnahme von Rivaroxaban bzw. Apixaban
*: p < 0,05 versus baseline; **: p < 0,01 versus baseline; ***: p < 0,001 versus baseline
+ : p < 0,05 versus Apixaban; ++ : p < 0,01 versus Apixaban; +++ : p < 0,001 versus Apixaban 40
Abb. 14: alpha-Winkel bei Gerinnungsaktivierung durch EXTEM vor Medikamenteneinnahme, 2 Stunden und 6 Stunden nach Einnahme von Rivaroxaban bzw. Apixaban
*: p < 0,05 versus baseline; **: p < 0,01 versus baseline; ***: p < 0,001 versus baseline
+ : p < 0,05 versus Apixaban; ++ : p < 0,01 versus Apixaban; +++ : p < 0,001 versus Apixaban 41
Abb. 15: Clotting Time bei Gerinnungsaktivierung durch INTEM vor Medikamenteneinnahme, 2 Stunden und 6 Stunden nach Einnahme von Rivaroxaban bzw. Apixaban
*: p < 0,05 versus baseline; **: p < 0,01 versus baseline; ***: p < 0,001 versus baseline
+ : p < 0,05 versus Apixaban; ++ : p < 0,01 versus Apixaban; +++ : p < 0,001 versus Apixaban 42

Literaturverzeichnis

[1] Agency, European Medicines. April 2014a. *EMA/230698/2013-Xarelto: EPAR-summary for the public*.
http://www.ema.europa.eu/docs/de_DE/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/000944/WC500057109.pdf.

[2] Agency, European Medicines. April 2014b. *EMA/663351/2012-Eliquis: EPAR-summary for the public*.
http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/002148/WC500107773.pdf.

[3] Agency, European Medicines. November 2015. *EMA/420728/2015-Lixiana: EPAR-summary for the public*.
http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/002629/WC500189048.pdf.

[4] Agency, European Medicines. September 2014a. *EMA/H/C/000944-N/28-Xarelto: EPAR -Product Infomation*.
http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000944/WC500057108.pdf.

[5] Agency, European Medicines. September 2014b. *EMA/H/C/002148 - PSUV/0012- Eliquis: EPAR -Product Infomation*.
http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002148/WC500107728.pdf.

[6] Agnelli, G., Buller, H. R., Cohen, A., Curto, M., Gallus, A. S., & Johnson. 2013. Oral apixaban for the treatment of acute venous thromboembolism. *N. Engl. J. Med.*, **369**(9), 799–808.

[7] Alexander, John H., Lopes, Renato D., James, Stefan, Kilaru, Rakhi, He, Yaohua, Mohan, Puneet, Bhatt, Deepak L., Goodman, Shaun, Verheugt, Freek W., Flather, Marcus, Huber, Kurt, Liaw, Danny, Husted, Steen E., Lopez-Sendon, Jose, De Caterina, Raffaele, Jansky, Petr, Darius, Harald, Vinereanu, Dragos, Cornel, Jan H., Cools, Frank, Atar, Dan, Leiva-Pons, Jose Luis, Keltai, Matyas, Ogawa, Hisao, Pais, Prem, Parkhomenko, Alexander, Ruzyllo, Witold, Diaz, Rafael, White, Harvey, Ruda, Mikhail, Geraldes, Margarida, Lawrence, Jack, Harrington, Robert A., & Wallentin, Lars. 2011. Apixaban with Antiplatelet Therapy after Acute Coronary Syndrome. *New England Journal of Medicine*, **365**(8), 699–708. PMID: 21780946.

[8] Andreotti, Felicita, Testa, Luca, Biondi-Zoccai, Giuseppe G.L., & Crea, Filippo. 2006. Aspirin plus warfarin compared to aspirin alone after acute coronary syndromes: an updated and comprehensive meta-analysis of 25307 patients. *European Heart Journal*, **27**(5), 519–526.

[9] Baglin, T., Hillarp, A., Tripodi, A., Elalamy, I., Buller, H., & Ageno, W. 2013. Measuring oral direct inhibitors of thrombin and factor Xa: a recommendation from the Subcommittee on Control of Anticoagulation of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, **11**(4), 756–760.

[10] Bauersachs, R., Berkowitz, S.D., Brenner, B., Buller, H.R., Decousus, H., Gallus, A.S., Lensing, A.W., & Misselwitz, F. 2010. Oral Rivaroxaban for Symptomatic Venous Thromboembolism. *New England Journal of Medicine*, **363**(26), 2499–2510. PMID: 21128814.

[11] Bhanwra, Sangeeta., & Ahluwalia, Kaza. 2014. The new factor Xa inhibitor: Apixaban. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, **5**(1), 12–14.

[12] Blann, Andrew D., Nadar, Sunil K., & Lip, Gregory Y.H. 2003. The adhesion molecule P-selectin and cardiovascular disease. *European Heart Journal*, **24**(24), 2166–2179.

[13] Buller, H. R., Prins, M. H., Lensin, A. W., Decousus, H., Jacobson, B. F., & Minar, E. 2012. Oral rivaroxaban for the treatment of symptomatic pulmonary embolism. *N. Engl. J. Med.*, **366**(14), 1287–1297.

[14] Casutt, M., Konrad, C., & Schuepfer, G. 2012. Effect of rivaroxaban on blood coagulation using the viscoelastic coagulation test ROTEM™. *Der Anaesthesist*, **61**(11), 948–953.

[15] Co.Kg, MEDA Pharma GmbH &. November 2015. *Fachinformation Marcumar®*.
`http://www.fachinfo.de/pdf/003056`.

[16] Committee, APPRAISE Steering, & Investigators. 2009. Apixaban, an Oral, Direct, Selective Factor Xa Inhibitor, in Combination With Antiplatelet Therapy After Acute Coronary Syndrome: Results of the Apixaban for Prevention of Acute Ischemic and Safety Events (APPRAISE) Trial. *Circulation*, **119**(22), 2877–2885.

[17] Connolly, S. J., Eikelboom, J., Joyner, C., Diener, H. C., & Hart. 2011. Apixaban in patients with atrial fibrillation. *N. Engl. J. Med.*, **364**(9), 806–817.

[18] Dias, João D., Norem, Katherine, Doorneweerd, Derek D., Thurer, Robert L., Popovsky, Mark A., & Omert, Laurel A. 2015. Use of Thromboelastography (TEG) for Detection of New Oral Anticoagulants. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, **139**(5), 665–673. PMID: 25927150.

[19] Douxfils, J., Chatelain, C.and Chatelain, B., Dogné, J.-M., & Mullier, F. 2013. Impact of apixaban on routine and specific coagulation assays: a practical laboratory guide. *Thrombosis and Haemostasis*, **110/2**, 283–294.

[20] Douxfils, Jonathan, Mullier, François, Loosen, Claire, Christian, Chatelain, Chatelain, Bernard, & Dogné, Jean-Michel. 2012. Assessment of the impact of rivaroxaban on coagulation assays: Laboratory recommendations for the

monitoring of rivaroxaban and review of the literature. *Thrombosis Research*, **130**(6), 956 – 966.

[21] Eby, C. 2013. Novel anticoagulants and laboratory testing. *International Journal of Laboratory Hematology*, **35**(3), 262–268.

[22] Eerenberg, Elise S., Kamphuisen, Pieter W., Sijpkens, Meertien K., Meijers, Joost C., Buller, Harry R., & Levi, Marcel. 2011. Reversal of Rivaroxaban and Dabigatran by Prothrombin Complex Concentrate: A Randomized, Placebo-Controlled, Crossover Study in Healthy Subjects. *Circulation*, **124**(14), 1573–1579.

[23] Eller, T., Busse, J., Dittrich, M., Flieder, T., Alban, S., Knabbe, C., & Birschmann, I. 2014. Dabigatran, rivaroxaban, apixaban, argatroban and fondaparinux and their effects on coagulation POC and platelet function tests. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, **52**(6), 835–844.

[24] Eriksson, B. I., Borris, L. C., Friedman, R. J., Haas, S., Huisman, M. V., & Kakkar. 2008. Rivaroxaban versus enoxaparin for thromboprophylaxis after hip arthroplasty. *N. Engl. J. Med.*, **358**(26), 2765–2775.

[25] for Standardization in Haematology, International Committee, on Thrombosis, International Committee, & Haemostasis. 1985. ICSH/ICTH recommendations for reporting prothrombin time in oral anticoagulation control. *Thromb Haemost*, **85**, 155–156.

[26] Frost, Charles, Wang, Jessie, Nepal, Sunil, Schuster, Alan, Barrett, Yu Chen, Mosqueda-Garcia, Rogelio, Reeves, Richard A., & LaCreta, Frank. 2013. Apixaban, an oral, direct factor Xa inhibitor: single dose safety, pharmacokinetics, pharmacodynamics and food effect in healthy subjects. *British Journal of Clinical Pharmacology*, **75**(2), 476–487.

[27] Garcia, D., Barett, Y. C., Ramacciotti, E., & Weitz, J. I. 2013. Laboratory assessment of the anticoagulant effects of the next generation of oral anticoagulants.

Journal of Thrombosis and Haemostasis, **11**(2), 245–252.

[28] Gerotziafas, G. T., Elalamy, I., Depasse, F., Perzborn, E., & Samama, M. M. 2007. In vitro inhibition of thrombin generation, after tissue factor pathway activation, by the oral, direct factor Xa inhibitor rivaroxaban. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, **5**(4), 886–888.

[29] Granger, C. B., Alexander, J. H., McMurray, J. J., & Lopes, R. D. 2011. Apixaban versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N. Engl. J. Med.*, **365**(11), 981–992.

[30] Gurney, David, Lip, Gregory Y.H., & Blann, Andrew D. 2002. A reliable plasma marker of platelet activation: Does it exist? *American Journal of Hematology*, **70**(2), 139–144.

[31] Habib, A., FitzGerald, GA., Garret A., & Maclouf, J. 1999. Phosphorylation of the Thromboxane Receptor α, the Predominant Isoform Expressed in Human Platelets. *Journal of Biological Chemistry*, **274**(5), 2645–2651.

[32] Haidl, H., Cimenti, C., Leschnik, B., Zach, D., & Muntean, W. 2006. Age-dependency of thrombin generation measured by means of calibrated automated thrombography (CAT). *Thromb Haemost*, **95/5**, 772–775.

[33] Hamm, Christian W., Bassand, Jean-Pierre, Agewall, Stefan, Bax, Jeroen, Boersma, Eric, Bueno, Hector, Caso, Pio, Dudek, Dariusz, Gielen, Stephan, Huber, Kurt, Ohman, Magnus, Petrie, Mark C., Sonntag, Frank, Uva, Miguel Sousa, Storey, Robert F., Wijns, William, Zahger, Doron, , Bax, Jeroen J., Auricchio, Angelo, Baumgartner, Helmut, Ceconi, Claudio, Dean, Veronica, Deaton, Christi, Fagard, Robert, Funck-Brentano, Christian, Hasdai, David, Hoes, Arno, Knuuti, Juhani, Kolh, Philippe, McDonagh, Theresa, Moulin, Cyril, Poldermans, Don, Popescu, Bogdan A., Reiner, Željko, Sechtem, Udo, Sirnes, Per Anton, Torbicki, Adam, Vahanian, Alec, Windecker, Stephan, , Windecker, Stephan, Achenbach, Stephan, Badimon, Lina, Bertrand, Michel, Bøtker, Hans Erik, Collet, Jean-Philippe, Crea, Filippo, Danchin, Nicolas, Falk,

Erling, Goudevenos, John, Gulba, Dietrich, Hambrecht, Rainer, Herrmann, Joerg, Kastrati, Adnan, Kjeldsen, Keld, Kristensen, Steen Dalby, Lancellotti, Patrizio, Mehilli, Julinda, Merkely, Béla, Montalescot, Gilles, Neumann, Franz-Josef, Neyses, Ludwig, Perk, Joep, Roffi, Marco, Romeo, Francesco, Ruda, Mikhail, Swahn, Eva, Valgimigli, Marco, Vrints, Christiaan JM, & Widimsky, Petr. 2011. ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*, **32**(23), 2999–3054.

[34] Hein, Lutz. 2013. Antithrombotika und Antihämorrhagika. *Pages 413–433 of:* Schwabe, Ulrich, & Paffrath, Dieter (eds), *Arzneiverordnungs-Report 2013*. Springer Berlin Heidelberg.

[35] Helin, Tuukka A., Pakkanen, Anja, Lassila, Riitta, & Joutsi-Korhonen, Lotta. 2013. Laboratory Assessment of Novel Oral Anticoagulants: Method Suitability and Variability between Coagulation Laboratories. *Clinical Chemistry*, **59**(5), 807–814.

[36] Hillarp, A., Baghaei, F., Fageberg Blixter, I., Gustafsson, K. M., Stigendal, L., Sten-Linder, M., Strandberg, K., & Lindahl, T. L. 2011. Effects of the oral, direct factor Xa inhibitor rivaroxaban on commonly used coagulation assays. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, **9**(1), 133–139.

[37] Hirsh, Jack, Fuster, Valentin, Ansell, Jack, & Halperin, Jonathan L. 2003. American Heart Association/American College of Cardiology Foundation Guide to Warfarin Therapy. *Circulation*, **107**(12), 1692–1711.

[38] Hirsh, Jack, Bauer, Kenneth A., Donati, Maria B., Gould, Michael, Samama, Meyer M., & Weitz, Jeffrey I. 2008. Parenteral anticoagulants*: American college of chest physicians evidence-based clinical practice guidelines (8th edition). *Chest*, **133**(6), 141–159.

[39] Hyseni, A., Kemperman, H., de Lange, D. W., de Groot, P. G., Linssen, M., Kesecioglu, J., Lisman, T., & Roest, M. 2013a. Increased mortality in systemic inflammatory response syndrome patients with high levels of coagulation factor VIIa. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, **11**(12), 2111–2117.

[40] Hyseni, Agon, Roest, Mark, Braun, Siegmund L., Barendrecht, Arjan D., de Groot, Philip G., Ndrepepa, Gjin, & Kastrati, Adnan. 2013b. Chronic dysfunction of the endothelium is associated with mortality in acute coronary syndrome patients. *Thrombosis Research*, **131**(March), 198–203.

[41] Hyseni, Agon, Kemperman, Hans, de Lange, Dylan W., Kesecioglu, Jozef, de Groot, Philip G., & Roest, Mark. 2014. Active von Willebrand factor predicts 28-day mortality in patients with systemic inflammatory response syndrome. *Blood*, **123**(14), 2153–2156.

[42] Kahn, Mark L., Nakanishi-Matsui, Mayumi, Shapiro, Michael J., Ishihara, Hiroaki, & Coughlin, Shaun R. 1999. Protease-activated receptors 1 and 4 mediate activation of human platelets by thrombin. *The Journal of Clinical Investigation*, **103**(6), 879–887.

[43] Kortekaas, K. A., Lindeman, J. H., Reinders, M. E., Palmen, M., Klautz, R. J., de Groot, P. G., & Roest, M. 2013. Pre-existing endothelial cell activation predicts vasoplegia after mitral valve surgery. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, **17**(3), 523–530.

[44] Koscielny, Jürgen, & Rutkauskaite, Edita. 2014. Rivaroxaban and Hemostasis in Emergency Care. *Emergency Medicine International*, **2014**(Article ID 935474), 9 pages.

[45] Krishna, Smriti Murali, & Golledge, Jonathan. 2013. The role of thrombospondin-1 in cardiovascular health and pathology. *International Journal of Cardiology*, 692–706.

[46] Kubitza, D, Becka, M, Voith, B, Zuehlsdorf, M, & Wensing, G. 2005. Safety, pharmacodynamics, and pharmacokinetics of single doses of BAY 59-7939, an oral, direct Factor Xa inhibitor. *Clin Pharmacol Ther*, **78**, 412–421.

[47] Lang, T., Bauters, A., Braun, SL, Pötzsch, B., von Pape, KW, Kolde, HJ, & Lakner, M. 2005. Multi-centre investigation on reference ranges for ROTEM thromboelastometry. *Blood Coagul Fibrinolysis*, **16**(June), 301–310.

[48] Lassen, M. R., Ageno, W., Borris, L. C., Lieberman, J. R., Rosencher, N., & Bandel. 2008. Rivaroxaban versus enoxaparin for thromboprophylaxis after total knee arthroplasty. *N. Engl. J. Med.*, **358**(26), 2776–2786.

[49] Lassen, M. R., Gallus, A., Raskob, G. E., Pineo, G., Chen, D., Ramirez, L. M., Lassen, M. R., Gallus, A., Pineo, G., Raskob, G., & Ansell, J. 2010. Apixaban versus enoxaparin for thromboprophylaxis after hip replacement. *N. Engl. J. Med.*, **363**(26), 2487–2498.

[50] Lippi, G., & Favaloro, E. J. 2015. Recent guidelines and recommendations for laboratory assessment of the direct oral anticoagulants (DOACs): is there consensus? *Clin. Chem. Lab. Med.*, **53**(2), 185–197.

[51] Lippi, G., & Favaloro, EJ. 2014. Recent guidelines and recommendations for laboratory assessment of the direct oral anticoagulants (DOACs): is there consensus? *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, **0**(0).

[52] Mani, H., Hesse, C., Stratmann, G., & E., Lindhoff-Last. 2013. Ex vivo effects of low-dose rivaroxaban on specific coagulation assays and coagulation factor activities in patients under real life conditions. *Thrombosis and Haemostasis*, **109/1**, 127–136.

[53] McLean, J. 1916. The thromboplastic action of cephalin. *Am.J.Physiol.*, **41**, 250–257.

[54] Mega, Jessica L., Braunwald, Eugene, Wiviott, Stephen D., Bassand, Jean-Pierre, Bhatt, Deepak L., Bode, Christoph, Burton, Paul, Cohen, Marc, Cook-Bruns, Nancy, Fox, Keith A.A., Goto, Shinya, Murphy, Sabina A., Plotnikov, Alexei N., Schneider, David, Sun, Xiang, Verheugt, Freek W.A., & Gibson, C. Michael. 2012. Rivaroxaban in Patients with a Recent Acute Coronary Syndrome. *New England Journal of Medicine*, **366**(1), 9–19. PMID: 22077192.

[55] Molenaar, PJ., Dinkelaar, J., & A., Leyte. 2012. Measuring Rivaroxaban in a clinical laboratory setting, using common coagulation assays, Xa inhibition and thrombin generation. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, **50**, 1799–1807.

[56] Mueck, Wolfgang, Kubitza, Dagmar, & Becka, Michael. 2013. Co-administration of rivaroxaban with drugs that share its elimination pathways: pharmacokinetic effects in healthy subjects. *British Journal of Clinical Pharmacology*, **76**(3), 455–466.

[57] Nandeesha, H., Bobby, Z., Selvaraj, N., & Rajappa, M. 2015. Pre-hypertension: Is it an inflammatory state? *Clin. Chim. Acta*, Oct.

[58] Nelsestuen, Gary L., Zytkovicz, Thomas H., & Howard, James Bryant. 1974. The Mode of Action of Vitamin K: Identification of γ-carboxyglutamic Acid as a Component of Prothrombin. *Journal of Biological Chemistry*, **249**(19), 6347–6350.

[59] Patel, Manesh R., Mahaffey, Kenneth W., Garg, Jyotsna, Pan, Guohua, Singer, Daniel E., Hacke, Werner, Breithardt, Günter, Halperin, Jonathan L., Hankey, Graeme J., Piccini, Jonathan P., Becker, Richard C., Nessel, Christopher C., Paolini, John F., Berkowitz, Scott D., Fox, Keith A.A., & Califf, Robert M. 2011. Rivaroxaban versus Warfarin in Nonvalvular Atrial Fibrillation. *New England Journal of Medicine*, **365**(10), 883–891. PMID: 21830957.

[60] Perzborn, E., Roehrig, S., Straub, A., Kubitza, D., & Misselwitz, F. 2011/01. The discovery and development of rivaroxaban, an oral, direct factor Xa

inhibitor. *Nat Rev Drug Discov*, **10**, 61– 75.

[61] Petrides, Löffler/. 2014. *Biochemie und Pathobiochemie*. Springer- Verlag Berlin Heidelberg.

[62] Raghavan, Nirmala, Frost, Charles E., Yu, Zhigang, He, Kan, Zhang, Haiying, Humphreys, W. Griffith, Pinto, Donald, Chen, Shiangyuan, Bonacorsi, Samuel, Wong, Pancras C., & Zhang, Donglu. 2009. Apixaban Metabolism and Pharmacokinetics after Oral Administration to Humans. *Drug Metabolism and Disposition*, **37**(1), 74–81.

[63] Rothberg, Michael B., Celestin, Carmel, Fiore, Louis D., Lawler, Elizabeth, & Cook, James R. 2005. Warfarin plus Aspirin after Myocardial Infarction or the Acute Coronary Syndrome: Meta-Analysis with Estimates of Risk and Benefit. *Annals of Internal Medicine*, **143**(4), 241–250.

[64] Rutten, B, Maseri, A, Cianflone, D, Laricchia, A, Cristell, NA, Durante, A, Spartera, M, Ancona, F, Limite, L, Hu, D, Li, H, Uren, NG, de Groot, PG, Mannucci, PM, & Roest, M. 2014. Plasma levels of active Von Willebrand factor are increased in patients with first ST-segment elevation myocardial infarction: A multicenter and multiethnic study. *European Heart Journal: Acute Cardiovascular Care*.

[65] Samama, Meyer Michel, Contant, Genevieve, Spiro, Theodore E., Perzborn, Elisabeth, Flem, Lena Le, Guinet, Céline, Gourmelin, Yves, & Martinoli, Jean Luc. 2012. Evaluation of the Prothrombin Time for Measuring Rivaroxaban Plasma Concentrations Using Calibrators and Controls: Results of a Multicenter Field Trial. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, **18**(2), 150–158.

[66] Schwabe, Ulrich. 2013. Arzneiverordnungen 2012 im Überblick. *Pages 3–46 of:* Schwabe, Ulrich, & Paffrath, Dieter (eds), *Arzneiverordnungs-Report 2013*. Springer Berlin Heidelberg.

[67] Shirk, Rebecca A., & Vlasuk, George P. 2007. Inhibitors of Factor VIIa/Tissue Factor. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, **27**(9), 1895–1900.

[68] Snoep, J. D., Roest, M., Barendrecht, A. D., de Groot, P. G., Rosendaal, F. R., & van der Boom, J. G. 2010. High platelet reactivity is associated with myocardial infarction in premenopausal women: a population-based case–control study. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, **8**(5), 906–913.

[69] Steg, Ph. Gabriel, James, Stefan K., Atar, Dan, Badano, Luigi P., Lundqvist, Carina Blomstrom, Borger, Michael A., Di Mario, Carlo, Dickstein, Kenneth, Ducrocq, Gregory, Fernandez-Aviles, Francisco, Gershlick, Anthony H., Giannuzzi, Pantaleo, Halvorsen, Sigrun, Huber, Kurt, Juni, Peter, Kastrati, Adnan, Knuuti, Juhani, Lenzen, Mattie J., Mahaffey, Kenneth W., Valgimigli, Marco, van't Hof, Arnoud, Widimsky, Petr, Zahger, Doron, , Bax, Jeroen J., Baumgartner, Helmut, Ceconi, Claudio, Dean, Veronica, Deaton, Christi, Fagard, Robert, Funck-Brentano, Christian, Hasdai, David, Hoes, Arno, Kirchhof, Paulus, Knuuti, Juhani, Kolh, Philippe, McDonagh, Theresa, Moulin, Cyril, Popescu, Bogdan A., Reiner, Željko, Sechtem, Udo, Sirnes, Per Anton, Tendera, Michal, Torbicki, Adam, Vahanian, Alec, Windecker, Stephan, , Hasdai, David, Astin, Felicity, Åström Olsson, Karin, Budaj, Andrzej, Clemmensen, Peter, Collet, Jean-Philippe, Fox, Keith A., Fuat, Ahmet, Gustiene, Olivija, Hamm, Christian W., Kala, Petr, Lancellotti, Patrizio, Maggioni, Aldo Pietro, Merkely, Béla, Neumann, Franz-Josef, Piepoli, Massimo F., Van de Werf, Frans, Verheugt, Freek, & Wallentin, Lars. 2012. ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force on the management of ST-segment elevation acute myocardial infarction of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*, **33**(20), 2569–2619.

[70] Tripodi, A. 2013. Which test to use to measure the anticoagulant effect of rivaroxaban: the prothrombin time test. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, **11**(4), 576–578.

[71] Tripodi, A., Chantarangkul, V., Guinet, C., & Samama, M. M. 2011. The International Normalized Ratio calibrated for rivaroxaban has the potential to

normalize prothrombin time results for rivaroxaban-treated patients: results of an in vitro study. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, **9**(1), 226–228.

[72] Tripodi, Armando, Padovan, Lidia, Veena, Chantarangkul, Scalambrino, Erica, Testa, Sophie, & Peyvandi, Flora. 2015. How the Direct Oral Anticoagulant Apixaban Affects Thrombin Generation Parameters. *Thrombosis Research*, **135**(6), 1186 – 1190.

[73] Turpie, A., Kreutz, R., Llau, J., Norrving, B., & Haas, S. 2012. Management consensus guidance for the use of rivaroxaban – an oral, direct factor Xa inhibitor. *Thromb Haemost*, **108**(•), 876–886.

[74] Uchida, Yoshie, Mori, Fumiaki, Ogawa, Hiroshi, Takagi, Atsushi, & Hagiwara, Nobuhisa. 2009. Impact of anticoagulant therapy with dual antiplatelet therapy on prognosis after treatment with drug-eluting coronary stents. *Journal of Cardiology*, **55**, 362 – 369.

[75] van Bladel, Esther R., Roest, Mark, de Groot, Philip G., & Schutgens, Roger E.G. 2011. Up-regulation of platelet activation in hemophilia A. *Haematologica*, **96**(6), 888–895.

[76] van der Land, Veronica, Mutsaerts, Henri J. M. M., Engelen, Marc, Heijboer, Harriët, Roest, Mark, Hollestelle, Martine J., Kuijpers, Taco W., Nederkoorn, Paul. J., Cnossen, Marjon H., Majoie, Charles B. L. M., Nederveen, Aart J., & Fijnvandraat, Karin. 2015. Risk factor analysis of cerebral white matter hyperintensities in children with sickle cell disease. *British Journal of Haematology*, n/a–n/a.

[77] Vigué, Bernard. 2009. Bench-to-bedside review: Optimising emergency reversal of vitamin K antagonists in severe haemorrhage – from theory to practice. *Critical Care*, **13**, 209.

[78] Wallentin, Lars. 2009. P2Y12 inhibitors: differences in properties and mechanisms of action and potential consequences for clinical use. *European Heart*

Journal, **30**(16), 1964–1977.

[79] Weinz, C., Schwarz, T., Kubitza, D., Mueck, W., & Lang, D. 2009. Metabolism and Excretion of Rivaroxaban, an Oral, Direct Factor Xa Inhibitor, in Rats, Dogs, and Humans. *Drug Metabolism and Disposition*, **37**(5), 1056–1064.

[80] Wielders, Simone J.H., Béguin, Suzette, Hemker, Coenraad, & Lindhout, Theo. 2004. Factor XI–Dependent Reciprocal Thrombin Generation Consolidates Blood Coagulation when Tissue Factor Is Not Available, url=http://atvb.ahajournals.org/content/24/6/1138.abstract. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 1138–1142.

[81] Wong, PancrasC., Pinto, DonaldJ.P., & Zhang, Donglu. 2011. Preclinical discovery of apixaban, a direct and orally bioavailable factor Xa inhibitor. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*, **31**(4), 478–492.

A. Anhang

A.1. Tabellen

Tabelle (2) *Demographische Charakteristika der Patientengruppen*

	Rivaroxaban (n=24)	**Apixaban (n=13)**	**P-Wert**
Alter, Jahren	63,8± 11,1	58,7±21,7	0,44
Alter $\leq$ 75 J.	2 (8)	4 (31)	0,14
männlich	21 (84)	7 (54)	0,05
Body mass index, kg/m^2	27,4±2,7	28,1±4,4	0,61
Vorerkrankungen			
Paroxysmales VHF	11 (44)	5 (39)	0,7
Persistierendes VHF	5 (20)	4 (31)	0,62
Dauer des VHF, Monate	40±37,2	45±49,3	0,51
Herzinsuffizienz (LVEF < 40%)	3 (12)	3 (23)	0,46
Hypertension	17 (68)	8 (62)	0,59
Diabetes mellitus	1 (4)	0 (0)	0,32
Z.n. TIA oder Schlaganfall	2 (8)	1 (8)	>0,9
KHK	7 (28)	2 (15)	0,34
chronische Niereninsuffizienz	0 (0)	1 (8)	0,34

CHADS2 score, MW	1,1±1,1	1,3±1,3	0,68
CHA2DS2-VASc score, MW	2,2±1,9	2,3±1,9	0,88
0	5 (20)	2 (15)	0,69
1	5 (20)	3 (23)	0,38
Größe des linken Ventrikels, mm	43±7	45±5	0,8
LVEF, %	56±8	51±13	0,28

Die Werte sind Mittelwert ± SD oder Anzahl n (%); LVEF, links-ventrikuläre Ejektionsfraktion; TIA, transiente ischämische Attacke

Tabelle (3) *Medikation*

	Rivaroxaban (n=25)	**Apixaban (n=13)**	**P-Wert**
Medikation			
Aspirin	8 (32)	4 (31)	0,88
Clopidogrel	1 (4)	0 (0)	0,32
Aspirin and Clopidogrel	1 (4)	0 (0)	0,32
ACE Hemmer/ Sartane	11 (44)	7 (54)	0,66
Beta- blocker	22 (88)	11 (85)	0,56
Calcium-Kanal Blocker	1 (4)	3 (23)	0,16
Digoxin	0 (0)	0 (0)	>0,9
Statin	9 (36)	5 (39)	>0,9
Diuretika	7 (28)	5 (39)	0,43

Die Werte sind Mittelwert ± SD oder Anzahl n (%); ACE, angiotensin-converting enzyme;

Tabelle (4) *allgemeine Bluttests*

	Rivaroxaban (n=24)	**Apixaban (n=13)**	**P-Wert**
Hämoglobin (g/dl)	14,4 (±1,38)	14,3 (±1,45)	0,85
Hämatokrit (%)	41,4 (±3,88)	41,6 (±3,44)	0,51
Leukozyten (G/L)	5,9 (±1,32)	6,7 (±2,18)	0,35
Thrombozyten (G/L)	198,5 (±50,92)	223,3 (±68,8)	0,15
Kreatinin (mg/dl)	1 (±0,15)	0,9 (±0,17)	0,29
CK (U/l)	159,5 (±194,8)	106,3 (±35,3)	0,63
CKMB (U/l)	15,7 (±11,09)	14,8 (±4,84)	0,52
Cholesterol (mg/dl)	205,6 (±42,03)	210,9 (±49,58)	0,67
HDL (mg/dl)	53,1 (±20,01)	63,1 (±20,84)	0,13
LDL (mg/dl)	120,5 (±30,81)	124,1 (±41,22)	0,76
CRP (mg/l)	2,8 (±4,61)	4,7 (±8,28)	0,46
HbA1c (%)	5,3 (±0,34)	5,2 (±0,09)	>0,9

Die Werte sind Mittelwert ± SD.

Tabelle (5) *Komplikationen*

	Rivaroxaban (n=24)	**Apixaban (n=13)**	**Gesamt (n=37)**	**P-Wert**
schwere Blutungskomplikationen	0	0	0	>0,9
Herztamponade	0 (0)	0 (0)	0 (0)	>0,9
Leistenhämatom	0 (0)	0 (0)	0 (0)	>0,9
gefäßchirurgische Intervention notwendig	0 (0)	0 (0)	0 (0)	>0,9
Leistenhämatom: Bluttransfusion notwendig	0 (0)	0 (0)	0 (0)	>0,9
Retroperitoneale Einblutung	0 (0)	0 (0)	0 (0)	>0,9
leichte Blutungskomplikationen	1 (4)	3 (23)	4 (11)	0,16
Perikarderguss ohne Tamponade	0 (0)	3 (23)	3 (8)	0,08
Leistenhämatom >5mm	1 (4)	0 (0)	1 (3)	0,33
Gesamt Blutungskomplikationen	1 (4)	3 (23)	4 (11)	0,16
Thromboembolische Komplikationen (CVA/ TIA)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	>0,9
Tod	0 (0)	0 (0)	0 (0)	>0,9
Gesamt: Blutungskomplikationen, thromboembolische Komplikationen, Tod	1 (4)	3 (23)	4(11)	0,16

Die Werte sind Mittelwert ± SD oder Anzahl n (%); CVA, cerebrovascular accident

Tabelle (6) *Globaltests*

	Rivaroxaban (n=24)	**Apixaban (n=13)**	**P-Wert**
TPZ (%)			
baseline	83 (±21)	91 (± 24)	0,54
2h n.M.	61 (±18)***	83 (± 21)*	0,003
6h n.M.	65 (±20)***	82 (± 20)*	0,026
INR			
baseline	1,11 (±0,17)	1,07 (± 0,1)	0,70
2h n.M.	1,32 (±0,24)***	1,12 (±0,13)*	0,006
6h n.M.	1,29 (±0,28)***	1,14 (±0,14)**	0,12
aPTT (s)			
baseline	34,5 (± 5,2)	30,2 (± 8,8)	0,049
2h n.M.	43 (± 7)***	33,9 (± 3,1)**	< 0,001
6h n.M.	42,8 (± 7,2)***	34,7 (± 3,9)**	0,001

Die Werte sind Mittelwert ± SD;
baseline, vor Medikamtenteneinnahme; n.M., nach Medikamenteneinnahme;
TPZ, Thromboplastinzeit; INR, International Normalized Ratio; aPTT, aktivierte partielle Thromboplastinzeit;
**: p < 0,05 versus baseline; **: p < 0,01 versus baseline; ***: p < 0,001 versus baseline.*

Tabelle (7) *anti Faktor Xa-Spiegel*

	Rivaroxaban (n=24)	**Apixaban (n=13)**	**P-Wert**
anti-Faktor Xa (ng/ml)			
baseline	95 (±83)	102 (±81)	0,89
2h n.M.	200 (±91)***	212 (±85)***	0,79
6h n.M.	177 (±82)***	174 (±64)***	0,96

Die Werte sind Mittelwert ± SD; n.M.,
baseline, vor Medikamtenteneinnahme; n.M., nach Medikamenteneinnahme;
**: $p < 0{,}05$ versus baseline; **: $p < 0{,}01$ versus baseline; ***: $p < 0{,}001$ versus baseline.*

Tabelle (8) *Gerinnungsparameter*

	Rivaroxaban (n=24)	**Apixaban (n=13)**	**P-Wert**
Fibrinogen (g/l)			
baseline	339,5 (±83,1)	348,9 (±95,8)	0,70
2h n.M.	338,6 (±82,9)	338,2 (±106,9)	0,96
6h n.M.	339,9 (±78,3)	341,8 (±107,2)	0,99
Antithrombin III (%)			
baseline	109,5 (±10,9)	113,9 (±14,2)	0,29
2h n.M.	124,8 (±13,5) ***	129,1 (±17,5) **	0,31
6h n.M.	119,8 (±15,7) **	121,3 (±12,5)*	0,79
D-Dimere (mg/l)			
baseline	0,54 (±0,96)	0,51 (±0,50)	0,56
2h n.M.	0,52 (±0,95)	0,51 (±0,54)	0,67
6h n.M.	0,56 (±1,29)	0,49 (±0,39)	0,35
PTF 1+2 (pmol/l)			
baseline	255 (±224)	204 (±110)	0,84
2h n.M.	204 (±144)	199 (±86)	0,56
6h n.M.	246 (±258)	163 (±86)	0,50
CATPeak (nMolar)			
baseline	140 (±73)	165 (±74)	0,18
2h n.M.	80 (±44)***	121 (±66)*	0,03
6h n.M.	80 (±39)***	120 (±49)*	0,01

ETP (nmol x min/l)			
baseline	1088 (±262)	1129 (±214)	0,40
2h n.M.	995 (±331)*	1068 (±262)*	0,34
6h n.M.	1014 (±325)	1077 (±211)	0,49
Faktor VII (ng/ml)			
baseline	256 (±210)	141 (±61)	0,02
2h n.M.	257 (±256)	162 (±51)	0,18
6h n.M.	227 (±153)	159 (±56)	0,04
akt. Faktor VII (ng /ml)			
baseline	8,7 (±15,5)	13,6 (±16,6)	0,23
2h n.M.	5,6 (±10,8)	17 (±22,7)	0,16
6h n.M.	15,5 (±19,1)	8,3 (±13,3)	0,24
TAT-Komplex (pM)			
baseline	13,5 (±20,7)	13,9 (±36,6)	0,34
2h n.M.	9,6 (±18,2)	15,3 (±34,9)	0,56
6h n.M.	21,9 (±46,6)	15,4 (±46,9)	0,14

Die Werte sind Mittelwert ± SD;
baseline, vor Medikamtenteneinnahme; n.M., nach Medikamenteneinnahme;
PTF 1+2, Prothrombinfragment F1+F2; CAT, calibrated automated thrombogram-based assay; CATPeak, Thrombinmaximum; ETP, endogenous thrombin potential; TAT-Komplex, Thrombin-Antithrombin-Komplex ;
**: $p < 0,05$ versus baseline; **: $p < 0,01$ versus baseline; ***: $p < 0,001$ versus baseline.*

Tabelle (9) *Thrombelastogramm*

	Rivaroxaban (n=24)	**Apixaban (n=13)**	**P-Wert**
TE EXTEM CT (s)			
baseline	82,8 (±28,7)	72,9 (±10,4)	0,44
2h n.M.	105,6 (±32,6)**	78,8 (±10,1)*	0,001
6h n.M.	105,3 (±41,6)**	76,8 (±14,3)	0,01
TE EXTEM CFT (s)			
baseline	92 (±28)	111 (±58)	0,43
2h n.M.	94 (±17)	95 (±42)*	0,89
6h n.M.	100 (±32)	99 (±36)	0,90
TE EXTEM alpha (°)			
baseline	72,7 (±5,9)	69,4 (±8,6)	0,46
2h n.M.	71,3 (±3,1)	72,2 (±6,2)*	0,72
6h n.M.	70,7 (±5,1)	71,1 (±6,4)	0,65
TE EXTEM MCF (mm)			
baseline	62,7 (±4,9)	62,1 (±8,3)	0,96
2h n.M.	62,6 (±4,3)	63,5 (±6,9)	0,70
6h n.M.	62,6 (±4)	63,2 (±6,4)	0,65
TE INTEM CT (s)			
baseline	187 (±34)	202 (±79)	0,63
2h n.M.	249 (±80)***	186 (±95)	0,02
6h n.M.	240 (±44)***	241 (±71)**	0,75
TE INTEM CFT (s)			
baseline	94 (±20)	128 (±133)	0,96
2h n.M.	95 (±23)	127 (±87)	0,80
6h n.M.	92 (±22)	104 (±48)	0,77

TE INTEM alpha (°)			
baseline	72 (±3,8)	70 (±12,3)	0,46
2h n.M.	71,7 (±4,2)	72,9 (±6,8)	0,38
6h n.M.	72,1 (±3,7)	71,5 (±6,8)	0,72
TE INTEM MCF (mm)			
baseline	57,1 (±4,1)	56,2 (±10,4)	0,96
2h n.M.	56 (±4)	50,8 (±20,8)	0,75
6h n.M.	56,5 (±4,4)	57,5 (±8,7)	0,85

Die Werte sind Mittelwert ± SD;
baseline, vor Medikamtenteneinnahme; n.M., nach Medikamenteneinnahme;
TE, Thrombelastogramm; CT, Clotting Time; CFT, Clot Formation Time; alpha, Steigungswinkel der Gerinnselentstehung; MCF, Maximal Clot Firmness;
**: $p < 0{,}05$ versus baseline; **: $p < 0{,}01$ versus baseline; ***: $p < 0{,}001$ versus baseline.*

Tabelle (10) *Multiplate Test*

	Rivaroxaban (n=24)	**Apixaban (n=13)**	**P-Wert**
MP ADP Test (U)			
baseline	517 (±277)	538 (±316)	0,77
2h n.M.	528 (±236)	623 (±290)	0,34
6h n.M.	526 (±227)	619 (±343)	0,40
MP ASPI Test (U)			
baseline	465 (±317)	594 (±355)	0,42
2h n.M.	422 (±301)	623 (±390)	0,15
6h n.M.	461 (±317)	651 (±402)	0,16
MP COL Test (U)			
baseline	523 (±207)	504 (±243)	>0,99
2h n.M.	521 (±214)	606 (±264)*	0,35
6h n.M.	554 (±240)	594 (±287)	0,65
MP TRAP Test (U)			
baseline	818 (±206)	849 (±346)	0,96
2h n.M.	876 (±238)	1007 (±317)	0,18
6h n.M.	874 (±270)	981 (±324)	0,27

Die Werte sind Mittelwert ± SD;
baseline, vor Medikamtenteneinnahme; n.M., nach Medikamenteneinnahme;
MP, Multiplate; ADP, Adenosinphosphat; ASPI, Arachidonsäure; COL, Kollagen;
TRAP, SFLLRN Peptid;
**: $p < 0{,}05$ versus baseline; **: $p < 0{,}01$ versus baseline; ***: $p < 0{,}001$ versus baseline.*

Tabelle (11) *Thrombozytenfunktion*

	Rivaroxaban (n=24)	**Apixaban (n=13)**	**P-Wert**
vWF (µg /ml)			
baseline	16,9 (±5,4)	17,8 (±7,5)	0,95
2h n.M.	17,1 (±4,9)	15,9 (±5,4)	0,95
6h n.M.	16,4 (±2,8)	17,5 (±8,3)	0,77
akt. vWF (µg /ml)			
baseline	171 (±69)	212 (±136,0)	0,77
2h n.M.	193 (±85)	213 (±146,6)	0,95
6h n.M.	243 (±192)	122 (±62,8)	0,40
β-TG (ng/ ml)			
baseline	17,3 (±8,4)	14,3 (±10,5)	0,35
2h n.M.	21,4 (±18,3)	14,5 (±9,9)	0,29
6h n.M.	15,7 (±8,9)	17,3 (±16,5)	0,86
SP-Selectine (ng/ml)			
baseline	72 (±20)	67 (±16)	0,86
2h n.M.	63 (±25)	62 (±25)	0,60
6h n.M.	70 (±15)	70 (±26)	0,80
Thrombospondin (ng/ml)			
baseline	248 (±212)	372 (±546)	0,68
2h n.M.	298 (±309)	188 (±160)	0,95
6h n.M.	154 (±140)	202 (±186)	0,28

Die Werte sind Mittelwert ± SD;
baseline, vor Medikamtenteneinnahme; n.M., nach Medikamenteneinnahme;
vWF, von Willebrand-Faktor; akt. vWF, aktivierter von-Willebrand-Faktor;
β-TG, β-Thromboglobulin;
**: $p < 0{,}05$ versus baseline; **: $p < 0{,}01$ versus baseline; ***: $p < 0{,}001$ versus baseline.*

A.2. Aufklärungsbogen

Patienteninformation
zur Studie „Thrombozytenfunktion und Gerinnungsaktivierung unter der Therapie mit dem oralen FXa Inhibitor Rivaroxaban“

Sehr geehrte Frau/sehr geehrter Herr .....

Sie wurden darüber aufgeklärt, dass bei Ihnen eine Rhythmusstörung (Vorhofflimmern) vorliegt, die das Schlaganfallrisiko erhöht. Deswegen wird eine Antikoagulation (Blutverdünnung) mit Marcumar oder Rivaroxaban durchgeführt. Für die Entstehung einer Thrombose oder einer Thombembolie (Schlaganfall) spielen Gerinnungsprozesse des Blutes eine zentrale Rolle, die bisher allerdings nur unzureichend verstanden sind. Im Rahmen eines Forschungsprojektes der Technischen Universität München werden Komponenten der Blutgerinnung untersucht mit dem Ziel, krankheitsbestimmende Faktoren zu erkennen. Für diese Untersuchungen sollen 3 Blutabnahmen vor, 2 Stunden nach und 6 Stunden nach Tabletteneinnahme von Rivaroxaban/Marcumar durchgeführt werden. Es sollen jeweils ca. 20 ml Blut abgenommen werden und verschiedene Routineuntersuchungen von Blutgerinnung und Aktivierung der Blutplättchen gemessen werden. Sollte bei Ihnen eine Verödung des Vorhofflimmerns durchgeführt werden soll vor, während und nach der Untersuchung eine weitere Blutabnahme durchgeführt werden, bei dem die gleichen Tests durchgeführt werden, um den Einfluss von Heparin, das bei der Untersuchung routinemäßig gegeben wird zu messen. Die Ergebnisse sollen dazu beitragen eine Messung der Gerinnungshemmung unter Antikoagulation mit Rivaroxaban zu optimieren.

Die Teilnahme an der Studie ist freiwillig und das Einverständnis kann jederzeit zurückgezogen werden.

Die Auswertung der gewonnenen Daten erfolgt in pseudoanonymisierter Form entsprechend den Datenschutzvorschriften. Die Gewinnung der Daten dient ausschließlich wissenschaftlichen Zwecken.

Hiermit erkläre ich mich zur Teilnahme an obengenannter Studie bereit.

....
(Datum) (Ort)

.....
(Unterschrift des Patienten)

.....
(Unterschrift des aufklärenden Arztes)

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Ilka Ott für die Überlassung des spannenden Themas, ihre wertvollen Ratschläge und ihre ausgezeichnete Betreuung während der gesamten Zeit.
Herrn Dr. Siegmund Lorenz Braun möchte ich herzlich für die Unterstützung bei der Planung sowie der Durchführung der Arbeit danken.
Allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Instituts für Laboratoriumsmedizin des Deutschen Herzzentrums Münchens, die durch ihren Einsatz zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, sowie insbesondere Frau Christina Bauer und Frau Birgit Campbell möchte ich herzlich danken.
Ganz besonders möchte ich meinen Eltern und meinen Brüdern für ihre unermüdliche Unterstützung und Ermutigung sowohl während des Studiums als auch darüber hinaus danken.