

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Deutsches Herzzentrum München
des Freistaates Bayern
Klinik für Herz- und Kreislaufkrankungen
an der Technischen Universität München
(Direktor: Prof. Dr. H. Schunkert)

Gerinnungsaktivierung während Radiofrequenzablation von Vorhofflimmern
unter Therapie mit Heparin in Kombination mit Apixaban oder Rivaroxaban

Lukas Constantin Brendel

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. E. J. Rummeny

Prüfer der Dissertation: 1. apl. Prof. Dr. I. V. Ott
2. Prof. Dr. H. Schunkert

Die Dissertation wurde am 31.08.2017 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 02.05.2018 angenommen.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	2
Abkürzungsverzeichnis	4
1 Einleitung	7
1.1 Allgemeine Einführung	7
1.2 Vorhofflimmern	8
1.2.1 Epidemiologie	9
1.2.2 Risikofaktoren, die Vorhofflimmern begünstigen.....	9
1.2.3 Risiko für zerebralen Insult und Indikation zur Antikoagulation	10
1.2.4 Mortalitätszunahme durch Vorhofflimmern	12
1.3 Hämostase.....	12
1.3.1 Initiation.....	12
1.3.2 Amplifikation	13
1.3.3 Ausbreitungsphase (Propagation).....	13
1.3.4 Stabilisation.....	14
1.4 Antikoagulation bei Vorhofflimmern.....	14
1.4.1 Inhibition des Faktors Xa.....	14
1.4.2 Rivaroxaban	15
1.4.3 Apixaban.....	19
1.5 Zusätzliche antikoagulative Therapie während Ablation	21
1.5.1 Heparin.....	21
1.6 Zielsetzung der Arbeit	23
2 Material und Methoden.....	24
2.1 Studienplanung und Studienpopulation.....	24
2.2 Antikoagulation.....	24
2.3 Ablation	25
2.4 Probenmanagement	26
2.4.1 Probengewinnung.....	26
2.4.2 Probenaufteilung	27
2.4.3 Probentransport und Verarbeitung	27
2.5 Diagnostik.....	28
2.5.1 Koagulationsparameter	28
2.5.2 Aktivitätsmarker für Koagulation und Fibrinolyse	29
2.5.3 Thrombelastometrie.....	31

2.5.4	Impedanz Aggregometrie.....	33
2.5.5	Weitere Thrombozytenfunktionstests und Gerinnungsfaktormessungen...	34
2.6	Definition der klinischen Komplikationen	38
2.7	Statistische Auswertung.....	39
3	Ergebnisse	40
3.1	Charakteristika des Patientenkollektivs (Tabelle 1).....	40
3.2	Prozedur Variablen (Tabelle 2).....	40
3.3	Heparin-gabe und ACT-Messungen (Tabelle 3).....	41
3.4	Labordaten (Tabelle 4)	41
3.4.1	Koagulationsparameter	41
3.4.2	Aktivitätsmarker für Koagulation und Fibrinolyse	44
3.4.3	Thrombelastometrie.....	45
3.4.4	Impedanz Aggregometrie.....	46
3.4.5	Weitere Thrombozytenfunktionstests und Gerinnungsfaktormessungen...	46
3.5	Klinische Komplikationen (Tabelle 5).....	46
4	Diskussion.....	47
4.1	Einleitung.....	47
4.2	Interpretation.....	47
4.3	Kritische Betrachtung.....	52
5	Zusammenfassung	53
6	Abbildungsverzeichnis.....	55
7	Literaturverzeichnis	56
8	Anhang.....	71
	Danksagung.....	85

Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
a	aktiviert
ACT	Activated Clotting Time
ADP	Adenosindiphosphat
aPTT	aktivierte partielle Thromboplastinzeit
AT III	Antithrombin III
AU	Arbitrary Units
AUC	Area under the curve
AV-Block	Atrioventrikulärer-Block
aVWF	aktivierter Von-Willebrand-Faktor
BCRP	Breast Cancer Resistance Protein
BSA	bovine serum antigen
CAT	Calibrated Automated Thrombogram
CFAE	komplexe fraktionierte Elektrogramme
CFT	Clot Formation Time
CT	Clotting Time
CT	Computertomographie
CXCL7	Chemokin C-X-C motif Ligand 7
CYP	Cytochrom P450
Da	Dalton
DCC	direct current cardioverion

DTI	direct thrombin inhibitor
EKG	Elektrokardiogramm
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
ESC	European Society of Cardiology
ETP	Endogenes Thrombin Potential
F1+2	Prothrombinfragment F1+2
FVII	Gerinnungs Faktor 7
FX	Gerinnungs Faktor 10
GP	Glykoprotein
HCII	Heparin Kofaktor II
HRP	Horseradish Peroxidase
INR	International Normalized Ratio
MCF	Maximum Clot Firmness
MRT	Magnetresonanztomographie
NADPH	Nicotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid- Phosphat
NPP	normal pooled plasma
OPD	Ortho-phenyldiamin
PAR	Protease-Activated-Receptors
PBS	phosphate-buffered saline
PFA	Plättchenfunktionsanalytik
P-Gp	P-Glykoprotein
RFA	Radiofrequenz-Ablation

RPM	rounds per minute (Umdrehungen pro Minute)
RR	Blutdruck nach Riva-Rocci
SP-Selektin	lösliches P-Selektin
TEE	transösophageale Echokardiographie
TFPI	Tissue Factor Pathway Inhibitor Protein
TPZ	Thromboplastinzeit
TRAP 6	Thrombinrezeptor-aktivierendes Peptid 6
TSP	Thrombospondin
TxA ₂	Thromboxan A ₂
UFH	Unfraktioniertes Heparin
VHH	heavy chain variable domains
VWF	Von-Willebrand-Faktor

1 Einleitung

1.1 Allgemeine Einführung

Im Jahr 2012 wurden in Deutschland etwa 50000 Katheterablationen durchgeführt, davon allein 15000 Pulmonalvenenisolationen (Israel 2013). Da bei der kathetergesteuerten Ablation von Vorhofflimmern ein thromboembolisches Ereignis eine der schwerwiegendsten Komplikationen ist, muss mit besonderer Sorgfalt während des Eingriffs auf die Antikoagulation der Patienten geachtet werden. Andererseits sind manche Komplikationen, wie z.B. die Perikardtamponade und vaskuläre Probleme, eben durch diese Antikoagulation bedingt (Calkins et al. 2012). Die Zahl der Patienten, die mit direkten, oralen Faktor Xa (aktivierter Faktor X) Inhibitoren behandelt werden und bei denen eine Katheterablation durchgeführt wird, nimmt stetig zu (Woods und Olgin 2014). Zu diesem Patientenkollektiv liegen derzeit nur unzureichende Daten vor, die zeigen, inwiefern sich eine Gabe von unfraktioniertem Heparin (UFH) während des Eingriffs in Verbindung mit den direkten Faktor-Xa-Inhibitoren Rivaroxaban und Apixaban auf eine Vielzahl von Gerinnungsparametern auswirkt. Insbesondere die Auswirkungen auf arzneispezifische Anti-Faktor-Xa-Aktivitätsmessungen sind derzeit nicht ausreichend erforscht. Die häufig verwendete Activated Clotting Time (ACT) scheint die Auswirkungen der Kombination von UFH zusammen mit entweder Rivaroxaban oder Apixaban auf den tatsächlichen Gerinnungsstatus nicht korrekt darstellen zu können, was es deutlich erschwert, intraprozedural UFH in einer korrekten und damit sicheren Dosierung zu verabreichen (Dillier et al. 2014; Kaess et al. 2015). Mit dieser Dissertation sollen nun diese Einflüsse auf Gerinnungstests genauer evaluiert werden, um die antikoagulatorische Wirkung der Arzneien besser einschätzen zu können und eine bessere Überwachung der intraprozeduralen UFH Gabe zu ermöglichen.

1.2 Vorhofflimmern

Vorhofflimmern ist eine typische supraventrikuläre Arrhythmie, die sich durch ungeordnete und unkoordinierte Kontraktionen des Vorhofs auszeichnet (Calkins et al. 2012).

Zur Diagnose von Vorhofflimmern sind folgende Veränderungen im Elektrokardiogramm (EKG) erforderlich (Camm et al. 2010b):

- Irreguläre Abstände zwischen den einzelnen R Wellen im EKG (RR Intervalle), die keinem sich wiederholenden Schema folgen. Dies gilt nur, wenn kein kompletter Atrioventrikulärer-Block (AV-Block) vorliegt.
- Es sind keine klar voneinander abgrenzbaren P Wellen vorhanden.
- Falls eine atriale Zykluslänge zu erkennen ist, so ist diese für gewöhnlich variabel und kürzer als 200 Millisekunden.

Es werden gemäß den bestehenden Richtlinien der Europäischen Gesellschaft für Kardiologie 5 verschiedene Typen von Vorhofflimmern unterschieden (Camm et al. 2010b; Kirchhof et al. 2012):

1. Neu diagnostiziertes Vorhofflimmern: Dieser Typ von Vorhofflimmern kann in jeder der im Folgenden aufgeführten Formen auftreten.
2. Paroxysmales Vorhofflimmern: Das Vorhofflimmern terminiert innerhalb von 48 Stunden bis maximal 7 Tagen von alleine.
3. Persistierendes Vorhofflimmern: Dauert die Vorhofflimmerepisode länger als 7 Tage oder wird mithilfe von Medikamenten oder einer Kardioversion die Episode beendet, liegt persistierendes Vorhofflimmern vor.
4. Langanhaltendes persistierendes Vorhofflimmern: Besteht seit mehr als einem Jahr kontinuierlich Vorhofflimmern, welches dennoch rhythmuserhaltend behandelt werden soll, so spricht man von langanhaltendem Vorhofflimmern.

5. Permanentes Vorhofflimmern: Definitionsgemäß liegt permanentes Vorhofflimmern vor, wenn dieses von dem Patienten sowie dem behandelnden Arzt akzeptiert wird und gegen das Fortbestehen des Vorhofflimmerns keine weiteren Maßnahmen mehr unternommen werden sollen.

1.2.1 Epidemiologie

Vorhofflimmern ist die häufigste klinisch relevante Herzrhythmusstörung. Sie tritt bei 0,1 % der Bevölkerung unter 55 Jahren auf, ab einem Alter von 80 Jahren sind es 9,0 % (Go et al. 2001). Bei Personen ab 85 Jahren steigt die Prävalenz weiter auf 17,8 % (Heeringa et al. 2006).

Für Vorhofflimmern liegt das Lebenszeitrisko von Personen mit 40 Jahren bei etwa 25 %. Das heißt, einer oder eine von 4 Männern bzw. Frauen wird in der verbleibenden Lebenszeit an Vorhofflimmern erkranken. Mit 80 Jahren beträgt das Lebenszeitrisko 22 % (Lloyd-Jones et al. 2004). Die Inzidenz von Vorhofflimmern wird in den nächsten Jahren voraussichtlich weiter ansteigen. In einer Studie konnte in Olmsted County in Minnesota allein zwischen 1980 und 2000 ein Anstieg der Inzidenz von 13 % festgestellt werden (Miyasaka et al. 2006).

In einer Studie aus dem Jahr 2013 wird für den Zeitraum zwischen 2010 und 2030 von einer jährlichen Zunahme der Prävalenz um 4,3 % und von einer jährlichen Zunahme der Inzidenz um 4,6 % ausgegangen. Die angenommenen Werte sind größer als die voraussichtliche Zunahme der Bevölkerung über 65 Jahre, die in der untersuchten Population bei 2,9 % liegt. Dies spräche dafür, dass abgesehen von der Zunahme der älteren Bevölkerung noch zusätzliche Faktoren für den Anstieg der Prävalenz und Inzidenz verantwortlich sein könnten (Colilla et al. 2013).

1.2.2 Risikofaktoren, die Vorhofflimmern begünstigen

Eine Vergrößerung des linken Vorhofs ist ein Risikofaktor für das Erkranken an Vorhofflimmern (Psaty et al. 1997; Vaziri et al. 1994). Da Übergewicht stark mit einer Dilatation

des linken Vorhofs assoziiert ist, gilt auch dieses als ein wichtiger Risikofaktor für Vorhofflimmern (Wang et al. 2004; Dublin et al. 2006). Als Parameter kann der Body-Mass-Index (BMI) herangezogen werden, der bei einem Wert von 25,0 bis 29,9 kg/m² ein etwa 1,3-faches Risiko für permanentes Vorhofflimmern birgt. Dieses wächst mit steigendem BMI an und erreicht bei einem BMI von über 40,0 kg/m² ein etwa 1,8-faches Risiko (Thacker et al. 2013). Eine Zunahme der linksventrikulären Wanddicke ist ebenso mit einem erhöhten Risiko für Vorhofflimmern assoziiert (Vaziri et al. 1994). Bluthochdruck begünstigt die Erweiterung des linken Vorhofs sowie eine Zunahme der linksventrikulären Wanddicke, womit Hypertension folglich ein Risikofaktor für Vorhofflimmern darstellt (Healey und Connolly 2003; Mitchell et al. 2007; Benjamin et al. 1994). Aufgrund der hohen Prävalenz von Bluthochdruck in der Bevölkerung sind die meisten Fälle von Vorhofflimmern durch diesen Risikofaktor bedingt (Kannel et al. 1998). Herzinsuffizienz und Herzklappenerkrankungen stellen mit einer fünffachen bzw. 2,5-fachen Risikoerhöhung für Vorhofflimmern wichtige Parameter dar (Kannel et al. 1998; Benjamin et al. 1994). Des weiteren steht Diabetes Typ 2 im Verdacht, ein Risikofaktor für Vorhofflimmern zu sein (Huxley et al. 2011; Benjamin et al. 1994; Nichols et al. 2009). In besonderem Maße scheinen Bluthochdruck in Verbindung mit Diabetes Typ 2 das Risiko für Vorhofflimmern zu erhöhen (Ostgren et al. 2004). Es wird auch der Zusammenhang mit einer genetischen Komponente diskutiert (Brugada et al. 1997).

1.2.3 Risiko für zerebralen Insult und Indikation zur Antikoagulation

Vorhofflimmern erhöht die Wahrscheinlichkeit, einen zerebralen Insult zu erleiden, um das Vier-, bis Fünffache (Wolf et al. 1991). Durch das erhöhte Risiko bedingt lassen sich Schlaganfälle über alle Altersgruppen hinweg zu 14,7 %, und in der Gruppe von 80- bis 89-Jährigen zu 36,2 % dem Vorhofflimmern zuordnen (Wolf et al. 1987). Dabei ist das Risiko, einen Schlaganfall zu erleiden, bei Patienten mit paroxysmalen Vorhofflimmern genauso hoch wie bei Patienten mit persistierendem oder permanentem Vorhofflimmern (Friberg et al. 2010). Außerdem sind Schlaganfälle, die durch Vorhofflimmern verursacht werden, schwerwiegender und haben eine schlechtere Prognose als andere Formen von Schlaganfällen (Jorgensen et al. 1996; Marini et al. 2005). Dies zeigt sich unter anderem

dadurch, dass die 30 Tage Mortalität der durch Vorhofflimmern bedingten Schlaganfälle bei etwa 25 % liegt, im Vergleich zu 14 % bei Schlaganfällen anderer Genese (Lin et al. 1996). An dieser Stelle ist darauf hinzuweisen, dass, selbst in der Abwesenheit eines klinisch manifesten Schlaganfalls, Vorhofflimmern ein Risikofaktor für kognitive Einschränkungen und Hippocampus-Atrophie ist (Knecht et al. 2008). Um festzustellen, ob ein Patient mit Vorhofflimmern einer antithrombotischen Therapie bedarf, können mehrere Bewertungsmaßstäbe, wie zum Beispiel der CHADS₂-Score oder der CHA₂DS₂VASc-Score, eingesetzt werden (Gage et al. 2001; Lip et al. 2010). Im CHADS₂-Score Bewertungssystem werden für das Vorhandensein von Herzinsuffizienz, Hypertension, Alter ≥ 75 Jahre, sowie Diabetes mellitus jeweils ein Punkt vergeben. Für entweder einen Schlaganfall, eine Transient Ischemic Attack (TIA) oder eine Thromboembolie in der Anamnese gibt es einmalig zwei Punkte. Die Schlaganfallrisiko pro Jahr ohne Antikoagulation liegt bei einem Punktwert von null bei 1,9 % und steigt weiter bis zu einem maximalen Punktwert von sechs auf ein Risiko von 18,2 % an. (Gage et al. 2001). Im Vergleich zu dem CHADS₂-Score vergibt der neuere CHA₂DS₂VASc-Score Patienten mit einem Alter ≥ 75 Jahre zwei Punkte für das Bewertungssystem sowie zusätzlich jeweils einen Punkt für eine vaskuläre Erkrankung in der Anamnese, ein Alter zwischen 65 und 74 Jahren sowie für das weibliche Geschlecht (Lip et al. 2010). Seit 2012 wird der CHA₂DS₂VASc-Score in den Leitlinien der European Society of Cardiology für die Risikoeinschätzung eines Schlaganfalls bei Patienten mit Vorhofflimmern empfohlen. Bei zwei oder mehr Punkten im Bewertungssystem wird die Gabe von oralen Antikoagulanzen empfohlen, bei lediglich einem Punkt kann alternativ die Gabe von Aspirin erwogen werden. Bei keinem Punkt im Bewertungssystem kann zwischen keiner Therapie oder einer Therapie mit Aspirin entschieden werden (Camm et al. 2012).

Das Risiko für das Auftreten einer Blutung, welches durch die Antikoagulation begünstigt wird, kann durch das HAS-BLED Bewertungssystem erfasst werden. Bei diesem System wird jeweils ein Punkt für das Vorhandensein von einer Hypertonie, einer abnormalen Nierenfunktion, einer abnormalen Leberfunktion, einem Schlaganfall in der Anamnese, einer Blutung in der Anamnese, einer labilen INR-Einstellung, einem Alter über 65 Jahre, einem Alkoholabusus sowie einer zusätzlichen Medikation mit gerinnungshemmenden Arzneien, vergeben. Ab drei oder mehr Punkten ist von einem erhöhten Risiko für eine

klinisch relevante Blutung, bedingt durch die Antikoagulation auszugehen. Es wird empfohlen Risikofaktoren zu beseitigen, die Antikoagulation der Patienten engheriger zu kontrollieren, bzw. von einer Antikoagulation abzusehen. (Pisters et al. 2010). Seit 2010 wird in den Leitlinien der European Society of Cardiology (ESC) die Anwendung dieses HAS-BLED Punktesystems bei Patienten mit Vorhofflimmern empfohlen (Camm et al. 2010a).

1.2.4 Mortalitätszunahme durch Vorhofflimmern

Vorhofflimmern ist mit einer 1,5 bis 1,9-fachen Zunahme der Mortalität assoziiert (Benjamin et al. 1998). Die 30-Tage Mortalität von Patienten mit Vorhofflimmern, die keine Antikoagulation erhalten und einen Schlaganfall erleiden, liegt bei etwa 25 %. Das Alter der Patienten aus der dazugehörigen Studie lag bei etwa 79 Jahren und ein Großteil war mit kardiovaskulären Risikofaktoren behaftet (Hylek et al. 2003; Lin et al. 1996). Eine antithrombotische Therapie kann jedoch die mit Schlaganfällen assoziierte 30-Tage Mortalität von Patienten mit Vorhofflimmern signifikant reduzieren (Hylek et al. 2003).

1.3 Hämostase

1.3.1 Initiation

Die Hämostase beginnt an Stellen, an denen die normale Gefäßwand beschädigt ist und das Thromboplastin (Faktor III + Phospholipide) der extravaskulären Zellen in Kontakt mit Faktor VII aus dem Blut gerät (Wildgoose und Kisiel 1989). Es entsteht ein Komplex aus Faktor VIIa und Thromboplastin, welcher Faktor IX zu Faktor IXa und Faktor X zu Faktor Xa umwandelt. Verlässt der Faktor Xa (Thrombokinase bzw. Stuart-Prower-Faktor) die nähere Zellumgebung, in der er gebildet wurde, sorgt die Carboxypeptidase B2 (auch Tissue Factor Pathway Inhibitor Protein (TFPI) genannt) und Antithrombin III (ATIII) für eine Inaktivierung. Faktor Xa, welcher sich immer noch in der Nähe der Zelloberfläche befindet, kann nun Faktor V in seine aktive Form überführen (Monkovic und Tracy 1990a). Faktor V kann jedoch auch durch andere zelluläre Proteasen in seine aktive Form überführt werden (Allen und Tracy 1995; Rodgers et al. 1987). Zusammen bilden

diese nun aus Prothrombin (Faktor II) in kürzester Zeit geringe Mengen an Thrombin (Faktor IIa) (Monroe et al. 1996).

(Bombeli 2004; Palta et al. 2014; Hoffman und Monroe 2001; Jurk und Kehrel 2005)

1.3.2 Amplifikation

Da die Menge an Thrombin, welches zu diesem Zeitpunkt entstanden ist, noch nicht ausreicht, um Fibrinogen in Fibrin umzuwandeln, gibt es mehrere Mechanismen, welche eine Thrombinbildung in größerem Maße weiter vorbereiten. Thrombozyten spielen dabei eine wichtige Rolle. Sie binden ebenfalls über ihre Glykoprotein (GP) VI Rezeptoren an Kollagen, sowie über die GP Ib und GP IX Rezeptoren an den Von-Willebrand-Faktor (VWF) der freiliegenden extravaskulären Matrix, wodurch sie aktiviert werden. Dabei schütten diese unter anderem Faktor V, P-Selektin und Fibrinogen aus ihren Alpha Granula sowie Adenosindiphosphat (ADP) und Calcium aus ihren Delta Granula auf ihre Oberfläche aus (Monkovic und Tracy 1990b; Palta et al. 2014). Zudem wird Thromboxan A₂ (TxA₂) gebildet, was wiederum weitere Thrombozyten aktiviert (Palta et al. 2014). Die während der Initiation gebildete geringe Menge an Thrombin verstärkt diesen Prozess zusätzlich durch weitere Aktivierung der Thrombozyten mithilfe des Protease-Activated-Receptors (PAR) sowie Aktivierung der Faktoren V und XI (Diaz-Ricart et al. 2000; Monroe et al. 1996; Hung et al. 1992). Außerdem wird der an Thrombozyten gebundene VWF von Thrombin gespalten, wodurch Faktor VIII freigegeben und aktiviert wird (Hultin 1985). Faktor VIIIa verbleibt im Anschluss auf der Thrombozytenoberfläche. Ein Teil des Thrombins, welches an non-PAR Rezeptoren gebunden ist, wie zum Beispiel GP Ib/IX Rezeptoren, kann weitere Koagulationsfaktoren auf der Thrombozytenoberfläche aktivieren.

(Hoffman und Monroe 2001)

1.3.3 Ausbreitungsphase (Propagation)

Während der Ausbreitungsphase (engl. Propagation) werden auf der Phospholipidoberfläche der Thrombozyten sowohl der Tenasekomplex (bestehend aus Faktor VIIIa und

IXa) als auch der Prothrombinasekomplex (bestehend aus Faktor Va und Xa) mithilfe von Kalziumionen gebildet, um Thrombin in großen Mengen produzieren zu können. Der Tenasekomplex entsteht, sobald Faktor IXa die Thrombozytenoberfläche erreicht. Der während der Initiation in der Nähe des Thromboplastins der extravaskulären Matrix entstandene Faktor IXa kann dabei weitgehend ungestört zur Thrombozytenoberfläche wandern, da er nicht sofort von ATIII und anderen Plasma Proteasen inhibiert wird. Außerdem kann Faktor XI aus dem Plasma an aktivierte Thrombozyten binden, dort von Thrombin aktiviert werden und somit lokal Faktor IXa zur Verfügung stellen (Oliver et al. 1999). Der Tenasekomplex wandelt auf der Thrombozytenoberfläche Faktor X in Faktor Xa um, womit dieser sofort mit Faktor Va den Prothrombinasekomplex bilden kann. Dieser ist nun für den sogenannten „Thrombin Burst“ verantwortlich, der nötig ist, um schließlich ein Fibringerinnsel zu bilden.

(Hoffman und Monroe 2001; Palta et al. 2014)

1.3.4 Stabilisation

Erst die vermehrte Bildung von Thrombin führt zur Aktivierung von Faktor XIII, welcher für die Quervernetzung von Fibrinmonomeren verantwortlich ist und somit dem Fibrin im Thrombozytenaggregat Stabilität verleiht. Thrombin aktiviert außerdem die bereits in 1.3.1 erwähnte Carboxypeptidase B2, wodurch das Gerinnsel vor Fibrinolyse geschützt wird (Lasne et al. 2006).

(Palta et al. 2014; Bombeli 2004)

1.4 **Antikoagulation bei Vorhofflimmern**

1.4.1 Inhibition des Faktors Xa

Wie aus Abschnitt 1.3 ersichtlich, nimmt Faktor Xa eine zentrale Rolle in der Gerinnungskaskade ein, da er sowohl durch den in 1.3.1 erwähnten Komplex aus Faktor VIIa und Thromboplastin als auch durch den in 1.3.3 beschriebenen Tenasekomplex in seine aktive Form übergeführt wird. Schließlich ist Faktor Xa im Prothrombinasekomplex für

den „Thrombin Burst“ verantwortlich. (Walenga et al. 2003; Shimizu et al. 2004; Kubitza und Haas 2006).

1.4.2 Rivaroxaban

Rivaroxaban ist ein oraler direkter Faktor Xa-Inhibitor und wurde für die Prävention und Behandlung von thromboembolischen Ereignissen entwickelt (Patel und ROCKET AF Study Investigators 2010).

1.4.2.1 Struktur

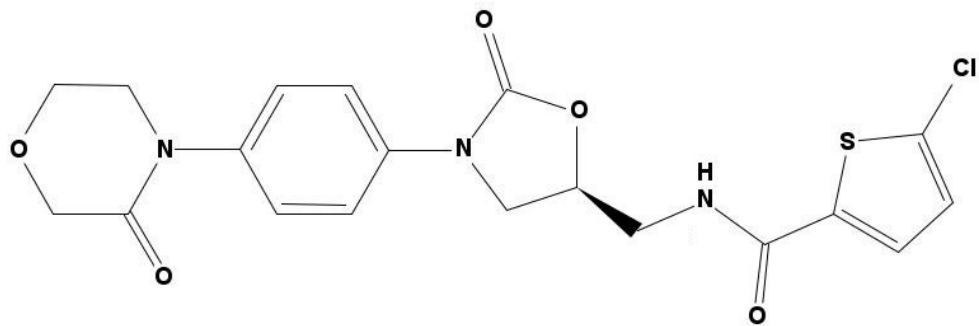


Abbildung 1-1: Chemische Struktur von Rivaroxaban (gemäß Roehrig et al. 2005)

Bei Rivaroxaban handelt es sich um ein Oxazolidinon-Derivat, das während seiner Entwicklungsphase als BAY59-7939 bezeichnet wurde (Perzborn et al. 2005).

1.4.2.2 Pharmakokinetik

Die maximal erreichbare Inhibition des Faktors Xa tritt etwa 3 Stunden nach der Einnahme von Rivaroxaban ein. Dies korreliert mit der maximalen Plasmakonzentration, die nach 3 bis 4 Stunden gemessen werden kann. Die Inhibition des Faktors Xa hält für mindestens 12 Stunden für Dosen von 5 mg bis 30 mg an. Rivaroxaban hat eine berechenbare und proportional zur Dosis verlaufende Pharmakokinetik. In gesunden Probanden mit normaler Nierenfunktion kommt es bei Einnahmeschemata von 5 mg morgens und abends, bis 30 mg morgens und abends zu keiner relevanten Akkumulation der Arznei. Die Terminale Halbwertszeit liegt bei 5,7 – 9,2 Stunden bei regelrechter Einnahme. Die

Thromboplastinzeit (TPZ), die aktivierte Partielle Thromboplastinzeit (aPTT) sowie der HepTest werden durch Rivaroxaban verlängert. Die verlängerten Zeiten korrelieren eng mit dem Ausmaß an Faktor Xa Inhibition. (Kubitza et al. 2005)

Rivaroxaban inhibiert den humanen Faktor Xa mit einer 10000-fach größeren Selektivität als andere Serin Proteasen, außerdem hemmt es die Aktivität des Prothrombinase-Komplexes (Perzborn et al. 2005). Für die Inhibition von Faktor Xa ist vor allem die Chlorthiophen-Amidbindung von Rivaroxaban verantwortlich. (Weinz et al. 2009) Auf die Metabolisierung dieser Bindung wird im Abschnitt 1.4.2.3 genauer eingegangen.

1.4.2.3 Metabolisierung

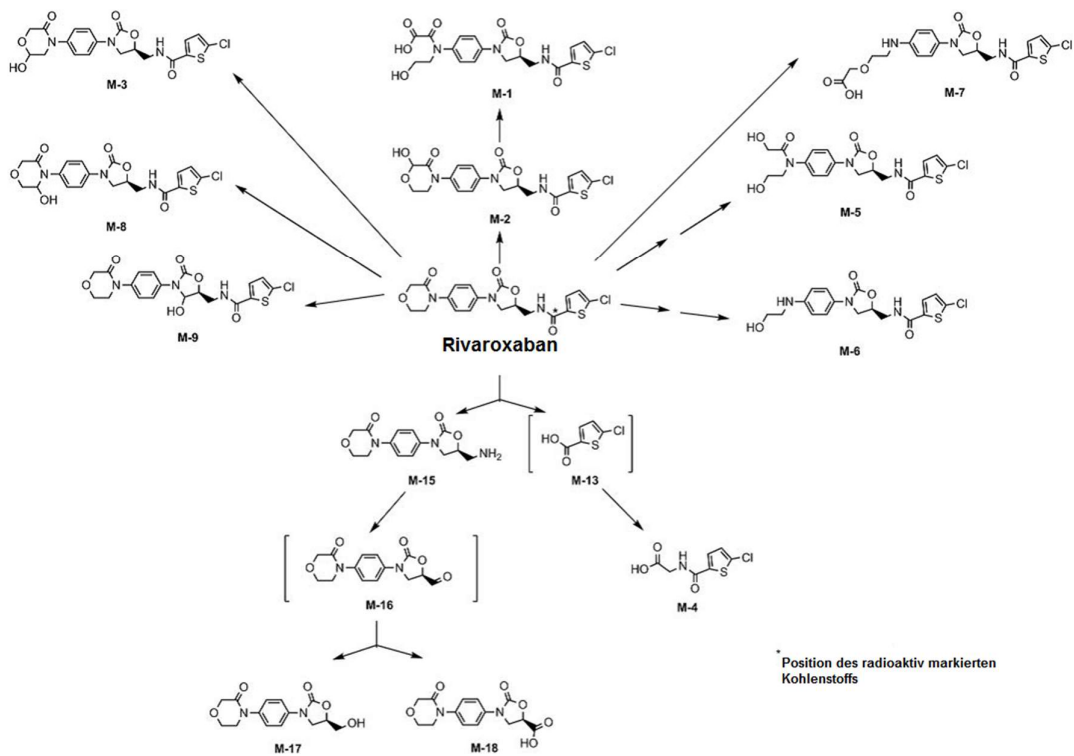


Abbildung 1-2: Metabolisierung von Rivaroxaban in Menschen, Ratten und Hunden (gemäß Weinz et al. 2009)

Rivaroxaban wird über 7 Tage nach Einnahme zu 66 % renal und zu 28 % faekal ausgeschieden (68 % davon allein in den ersten 24 h nach Einnahme von 10 mg Rivaroxaban) (Weinz et al. 2009).

Die Eliminierung erfolgt hierbei über 3 unterschiedliche Wege:

- Etwa 43 % der Dosis wird unverändert ausgeschieden. Dies geschieht zu 36 % renal und zu 7 % faekal, wobei zu dem faekalem Anteil im Gastrointestinaltrakt nicht resorbiertes sowie extrabiliar ausgeschiedenes Rivaroxaban zählen (Weinz et al. 2009). Als aktive renale Transportproteine konnten das Breast Cancer Resistance Protein (BCRP) sowie das P-Glykoprotein (P-gp) in vitro mit Rivaroxaban in Verbindung gebracht werden (Gnoth et al. 2011).
- Etwa 14 % der Dosis wird durch hydrolytische Spaltung von zwei verschiedenen Amidbindungen eliminiert. Eine Amidbindung liegt im Morpholinon-Ring von Rivaroxaban, welche hydrolytisch gespalten wird. Es entsteht das Molekül M-7 (siehe Abbildung 1-2). Die Hydrolyse der Amidbindung des Chlorthiophenamids führt hingegen zu M-13, welches in Hepatozyten sogleich mit Glycin konjugiert wird, wodurch M-4 entsteht (siehe Abbildung 1-3). Die Chlorthiophenamidbindung ist für die Inhibition von Faktor Xa verantwortlich (Weinz et al. 2009).

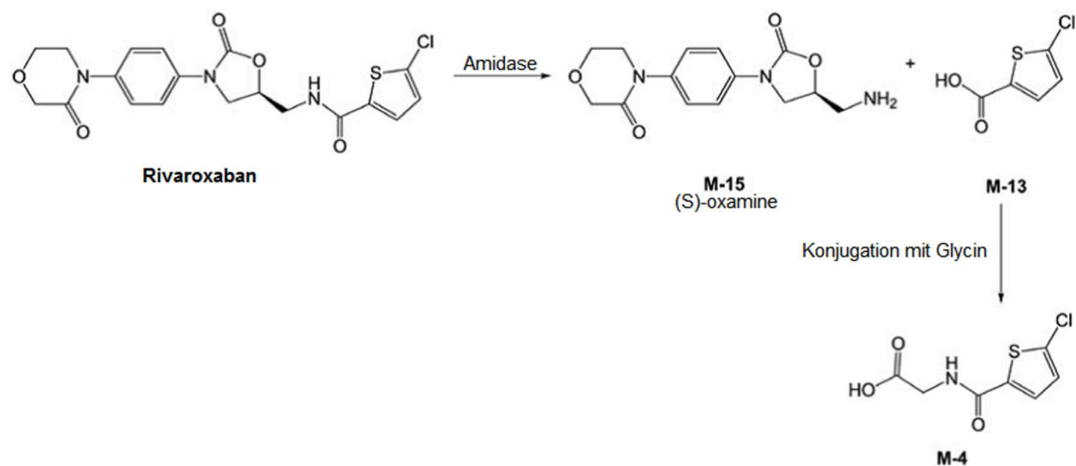


Abbildung 1-3: Hydrolytische Spaltung von Rivaroxaban (gemäß Lang et al. 2009)

- Etwa 36 % der Dosis wird durch oxidative Schritte eliminiert. Durch Hydroxylierung am Morpholinon-Ring entstehen die Moleküle M-2, M-3 sowie M-8 (siehe Abbildung 1-2). Dabei nehmen die Hydroxygruppen lediglich unterschiedliche Positionen am Morpholinon-Ring ein. In den Hepatozyten wird durch die oxidative Spaltung des Morpholinon-Rings aus M-2 der Metabolit M-1 gebildet, der zugleich den am meisten entstehenden Metabolit darstellt (siehe Abbildung 1-2). Der Metabolit M-5 entsteht aus M-2 durch eine reduktive Ringöffnung. Über 60 % der Metabolisierung läuft über das Zwischenprodukt M-2 ab (siehe Abbildung 1-2). Die Enzyme Cytochrom P450 3A4 (CYP3A4) und CYP2J2 sind zu gleichen Teilen für die oxidative Metabolisierung zuständig. M-9 ist ein Metabolit, der durch Hydroxylierung an der Oxazolidinon-Gruppe von Rivaroxaban entsteht. Für eine Nicotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat (NADPH) unabhängige Oxidation von M-15 zu M-16 (siehe Abbildung 1-2) scheinen Monoaminoxidasen verantwortlich zu sein (Weinz et al. 2009).

1.4.3 Apixaban

1.4.3.1 Struktur

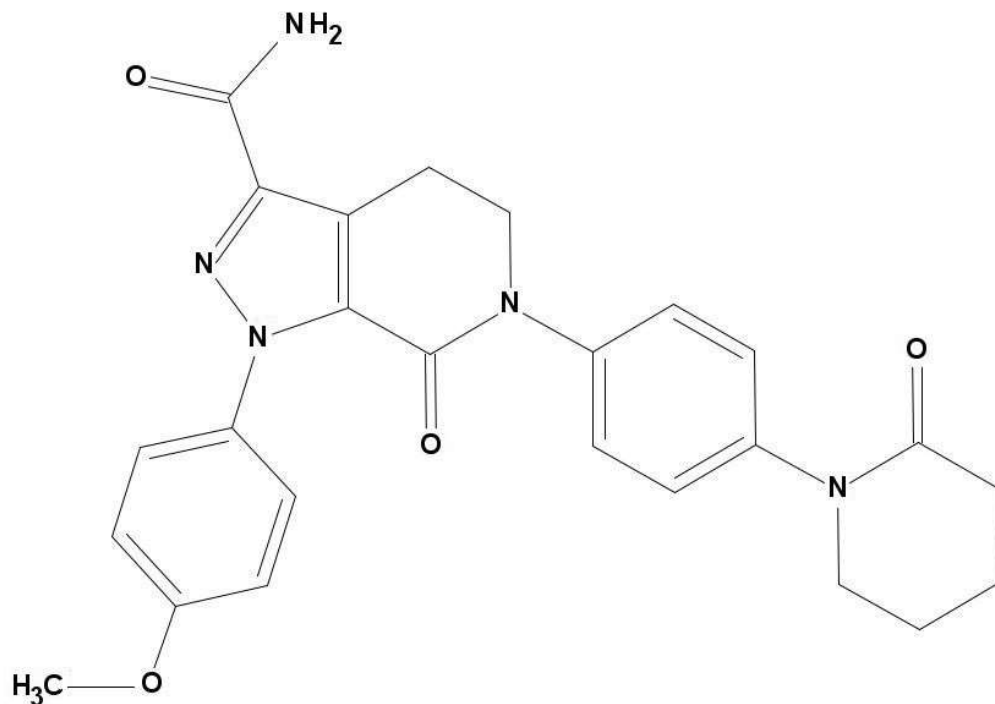


Abbildung 1-4: Chemische Struktur von Apixaban (gemäß Zhang et al. 2009)

1.4.3.2 Pharmakokinetik

Die maximalen Plasmakonzentrationen von Apixaban können 1,5 bis 3 Stunden nach Einnahme der Arznei gemessen werden. Die selektive Hemmung des Faktors Xa korreliert eng mit den pharmakokinetischen Eigenschaften von Apixaban, die berechenbar und proportional bei Dosen von 0,5 bis 50 mg verlaufen. Die Halbwertszeit liegt bei etwa 12 Stunden. Die TPZ sowie die aPTT werden durch Apixaban verlängert (Frost et al. 2013). Die orale Bioverfügbarkeit von Apixaban liegt bei 50 % (Wong et al. 2011).

1.4.3.3 Metabolisierung

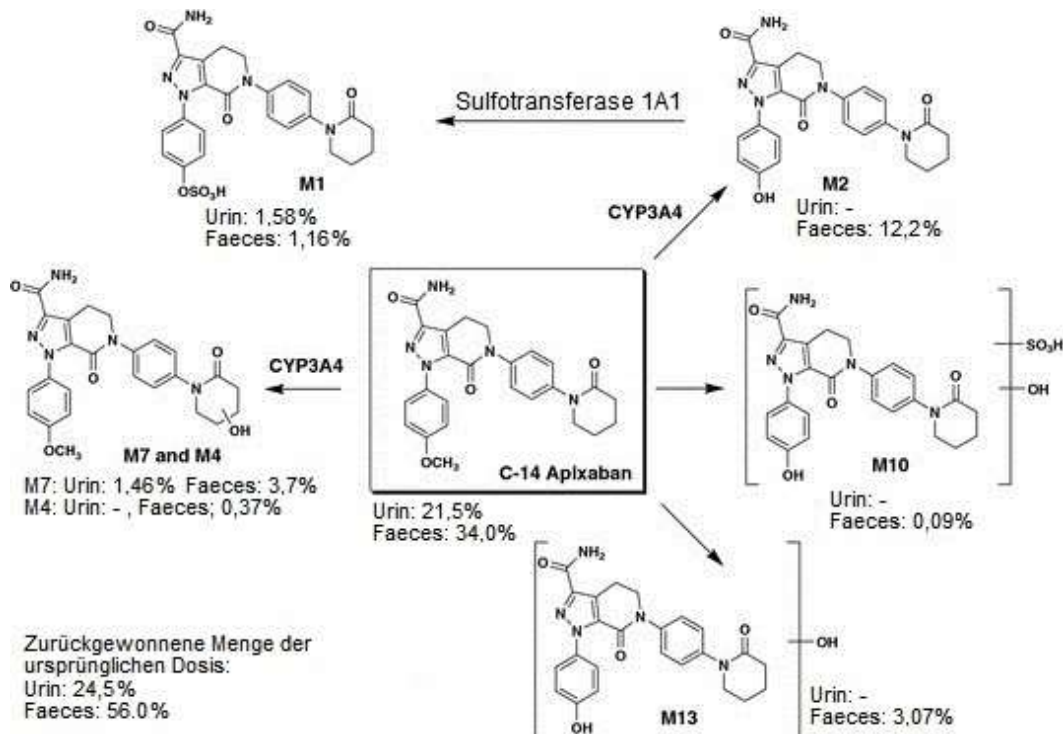


Abbildung 1-5: Biotransformationswege von Apixaban im Menschen. Gemessen wurde die Menge der einzelnen Metabolite 48 Stunden nach oraler Einnahme von 20 mg Apixaban, welches mit einem radioaktiv markierten Kohlenstoff versehen wurde. Mengenangaben in Prozent zur Ausgangsdosis. (gemäß Wong et al. 2011)

Apixaban wird zu je einem Drittel renal exkretiert, hepatisch metabolisiert sowie intestinal bzw. biliär sekretiert. Unverändert wird Apixaban zu etwa 21,5 % renal und zu etwa 34 % faekal ausgeschieden. (Wong et al. 2011)

Die Metabolisierung von Apixaban wird hauptsächlich durch CYP3A4, CYP3A5, BCRP sowie das P-Gp katalysiert. Dabei wirkt es nicht signifikant inhibierend auf diese Enzyme. Die Metabolite O-Demethyl Apixaban Sulfat (M1), 3-Hydroxy Apixaban (M7) und Hydroxylisiertes O-Demethyl Apixaban (M13) kommen am häufigsten in vivo vor (siehe Abbildung 1-5). Der Metabolit O-Demethyl Apixaban (M2) wurde hauptsächlich durch CYP1A2 und CYP2J2 gebildet, die Enzyme CYP2C8, CYP2C9 und CYP2C19 tragen hierbei nur in geringem Maße bei. O-Demethyl Apixaban Sulfat (M1) wird anschließend durch die Sulfotransferase 1A1 aus O-Demethyl Apixaban (M2) gebildet. Alle

weiteren in Abbildung 1-5 dargestellten Metabolite werden aus nicht mehr als 5 % der Apixaban Dosis gebildet. (Raghavan et al. 2009; Wang et al. 2009; Wong et al. 2011)

Die Anteile der Metabolite, die faekal bzw. renal ausgeschieden werden, können der Abbildung 1-5 entnommen werden. Die Prozentangaben beruhen dabei auf einer Studie von Wong et al. aus dem Jahr 2011 in der 6 Probanden beteiligt waren. (Wong et al. 2011)

1.5 Zusätzliche antikoagulative Therapie während Ablation

Da thromboembolische Ereignisse zu den schwerwiegendsten Komplikationen der Radiofrequenz-Ablation (RFA) zählen, muss die Thrombusbildung in besonderem Maße unterbunden werden (Calkins et al. 2012). Ein Grund für die vermehrte Neigung zur Thrombusbildung während einer RFA liegt darin begründet, dass durch die Ablation das Endothel des Vorhofs geschädigt und somit die Hämostase, wie in 1.3.1 bereits beschrieben, durch freilegende extravaskuläre Matrix eingeleitet wird (O'Neill et al. 2007). Des Weiteren können sich Thromben auf körperfremden Material von Schleusen und Kathetern, die sich während des Eingriffs in den Gefäßen befinden, bilden. Verbranntes Gewebe an den Ablationsstellen sowie auf dem Ablationskatheter tragen ebenso zur vermehrten Gerinnung bei und bereits vorhandene Thromben im linken Vorhof können durch die Katheter abgelöst werden (Calkins et al. 2007). All diese Risiken sind Grund dafür, dass während der Ablationsprozedur noch UFH verabreicht wird (Darge et al. 2009). Inwieweit eine Antikoagulation mit Faktor-Xa-Inhibitoren mit der Gabe von UFH interferiert, ist bisher unklar.

1.5.1 Heparin

1.5.1.1 Struktur

Heparin wurde erstmals im Jahre 1916 von Jay McLean aus Lebergewebe von Hunden isoliert und seine gerinnungshemmende Wirkung entdeckt (McLean J. 1916). Heparin ist ein Mucopolysaccharid mit gebundenen Sulfat-Gruppen und hat ein Molekulargewicht zwischen 3000 und 30000 Dalton (Da). Im Mittel beträgt das Molekulargewicht 15000 Da, was etwa einer Kette aus 45 Monosaccharideinheiten entspricht (Garcia et al.

2012). In dieser Zusammensetzung wird Heparin auch als Standardheparin bzw. UFH bezeichnet (Hirsh et al. 2001). Jedoch enthalten nur etwa ein Drittel der Heparinmoleküle eine spezielle Pentasaccharideinheit, welche für den Großteil des antikoagulativen Effekts verantwortlich ist. Ohne diese Einheit haben die Heparinmoleküle nur einen geringeren antikoagulativen Effekt (Lam et al. 1976).

1.5.1.2 Pharmakokinetik und Metabolisierung

Heparin katalysiert die Hemmung von aktiviertem Thrombin durch die Bildung eines ternären Komplexes mit ATIII und Thrombin. Um Faktor Xa zu inaktivieren, muss Heparin jedoch nur einen binären Komplex mit ATIII bilden und somit ist es nicht nötig, dass die Polysaccharidkette des Heparins Kontakt zu Faktor Xa hat (Casu et al. 1981). Heparinmoleküle, deren Polysaccharidkette kürzer als 18 Saccharidmoleküle ist, sind zu kurz, um ATIII mit Thrombin zu verbinden, und können daher nur die Inaktivierung von Faktor Xa katalysieren (Lane et al. 1984; Lindahl et al. 1984). Für beide Fälle ist für die Bildung der Komplexe die bereits in 1.5.1.1 beschriebene Pentasaccharideinheit von besonderer Bedeutung. Erst bei einer Heparinabgabe, deren Konzentration über der normalerweise verabreichten therapeutischen Konzentrationen liegt, können Heparinmoleküle ohne diese Pentasaccharideinheit über den Heparin Kofaktor II (HCII) eine Thrombin Inhibition bewirken (Tollefsen et al. 1982).

Der Heparin/ATIII Komplex ist ebenfalls für die Inaktivierung von Faktor IXa, XIa und in geringem Maße auch von Faktor XIIa verantwortlich (Merlini et al. 1994). Durch die Inaktivierung von Thrombin wird nicht nur die Fibrinbildung unterbunden, sondern auch die durch Thrombin bedingte Aktivierung von Thrombozyten und der Faktoren V, VIII, XI (Ofosu et al. 1987).

Heparin kann ebenfalls an den Von-Willebrand-Faktor binden, wodurch dieser nicht mehr in der Lage ist, mit Thrombozyten zu interagieren und diese zu aktivieren (Sobel et al. 1991). Da UFH auch an Endothelzellen und Makrophagen sowie eine Vielzahl von anderen Plasmaproteinen bindet, zeigt sich ein sehr variables Ansprechen der Gerinnung auf die Therapie. (Hirsh et al. 2007)

Der Abbau von UFH erfolgt zum Großteil über eine schnelle, sättigbare Phase und eine langsamere, nicht sättigbare Phase (Swart et al. 1982; Bjornsson et al. 1982). Nach der bereits oben beschriebenen Bindung an Endothelzellen und Makrophagen wird UFH von diesen schließlich internalisiert und depolymerisiert (Dawes und Papper 1979). Da nicht unbegrenzt Bindungstellen zur Verfügung stehen, ist dies ein sättigbarer Mechanismus. Die renale Ausscheidung von UFH stellt die nicht sättigbare Phase des UFH Abbaus dar, kommt bei therapeutischer Dosierung von UFH jedoch vergleichsweise weniger zur Geltung. Aufgrund der komplexen Kinetik des Abbaus von UFH stellt sich der antikoagulatorische Effekt von Heparin bei therapeutischer Dosierung nichtlinear dar, wobei Intensität und Dauer der Wirkung nicht proportional zur Dosierung verlaufen (Garcia et al. 2012).

1.6 Zielsetzung der Arbeit

In der Vergangenheit konnte gezeigt werden, dass die ununterbrochene Gabe von Rivaroxaban und Apixaban zusammen mit UFH während der RFA effektiv und sicher erscheint, auch wenn anzumerken bleibt, dass diese Studien von ihrer statistischen Stärke nicht auf klinische Endpunkte ausgerichtet waren (Dillier et al. 2014; Kaess et al. 2015; Nairooz et al. 2015). Dabei zeigte sich jedoch auch, wie schwierig es ist, den antikoagulatorischen Effekt von UFH während der RFA zu messen, da die häufig verwendete ACT es nicht vermag, die tatsächliche antikoagulatorische Aktivität der Kombination dieser unterschiedlichen Arzneien darzustellen (Dillier et al. 2014; Kaess et al. 2015). Die Auswirkungen, die oral verabreichte, direkte Faktor-Xa-Inhibitoren, wie Apixaban und Rivaroxaban, in Verbindung mit der Gabe von UFH während einer RFA auf diverse Blutgerinnungsparameter, wie beispielsweise arzneispezifische Anti-Faktor-Xa-Aktivitätsmessungen, haben, sind derzeit nicht ausreichend erforscht. Mit dieser Dissertation sollen nun diese Einflüsse auf Gerinnungstests genauer evaluiert werden, um die antikoagulatorische Wirkung der Arzneien besser einschätzen zu können und eine bessere Überwachung der intraprozeduralen UFH Gabe zu ermöglichen.

2 Material und Methoden

2.1 Studienplanung und Studienpopulation

Die vorliegende Arbeit wurde als prospektive, beobachtende Studie angelegt und am Deutschen Herzzentrum München des Freistaates Bayern von August 2012 bis Februar 2014 durchgeführt. Es wurden 90 Patienten, die entweder Rivaroxaban ($n = 73$) oder Apixaban ($n = 17$) als Medikation erhielten und bei denen eine RFA des linken Vorhofs durchgeführt wurde, in die Studie eingeschlossen. Dem Studienprotokoll wurde von der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Technischen Universität München zugestimmt. Alle teilnehmenden Patienten wurden aufgeklärt und haben eine Einwilligungserklärung unterschrieben.

2.2 Antikoagulation

Die Voraussetzungen für die Teilnahme an der Studie waren die Einnahme von 20 mg Rivaroxaban einmal täglich oder 5 mg Apixaban zweimal täglich innerhalb der 4 Wochen vor der Ablation. Am Vorabend und am Morgen der elektrophysiologischen Untersuchung bekamen Patienten nur 10 mg Rivaroxaban bzw. 2,5 mg Apixaban. Es wurden nur Patienten eingeschlossen, die am folgenden Morgen als erster bzw. zweiter Eingriff im EPU Labor geplant waren, um Abweichungen in den Zeitintervallen zwischen der letzten Gabe des Faktor Xa Inhibitors und der Ablation zu vermeiden. Am Abend der elektrophysiologischen Untersuchung setzten die Patienten die Therapie mit der Standarddosis ihres jeweiligen Medikaments fort.

Während des Eingriffs wurde zusätzlich UFH zur Antikoagulation verwendet. Nach der ersten Gefäßpunktion wurde im selben Raum die Ausgangs-ACT mit einem mobilen Hemochron Signature Elite Mikrokoagulationsgerät (Keller Medical, Deutschland) gemessen. Nach transseptaler Punktion wurde den Patienten, bei denen eine ACT von über 170 Sekunden bestimmt wurde, ein Bolus von 50 Einheiten Heparin pro kg Körpergewicht verabreicht. Ein Bolus von 60 Einheiten Heparin pro kg Körpergewicht bekamen Patienten mit einer ACT von unter oder gleich 170 Sekunden. Ziel war es, eine ACT von

250 bis 300 Sekunden zu erreichen. Die ACT wurde 15 Minuten nach der Bolusinjektion und daraufhin alle 30 Minuten gemessen. Um die Ziel ACT während des Eingriffs beibehalten zu können, wurde für den Perfusor eine Untergrenze von 20 Einheiten Heparin pro kg Körpergewicht pro Stunde festgelegt. Die Obergrenze waren 25 Einheiten Heparin pro kg Körpergewicht pro Stunde.

2.3 Ablation

Bei allen Patienten wurde vor dem Eingriff entweder eine Computer Tomographie (CT) oder eine transösophageale Echokardiographie (TEE) durchgeführt, um bereits vorhandene Thromben in den Vorhöfen auszuschließen.

Es wurde eine Analgosedierung mit Fentanyl, in Verbindung mit entweder Midazolam oder Disoprivan, durchgeführt. Im Anschluss an die Punktion der Vena Femoralis wurden, geführt über einen Seldinger Draht, drei gespülte 8 French venöse kurze Schleusen (St. Jude Medical, St. Paul, MN, USA), sowie eine gespülte 8 French lange Schleuse mit beweglicher Spitze (Terumo Corporation, Tokyo, Japan) gelegt. War für den Eingriff zusätzlich ein arterieller Zugang notwendig, so wurde eine gespülte 4 French arterielle Schleuse (St. Jude Medical, St. Paul, MN, USA) mit der Seldinger Technik in die Arteria Femoralis gelegt. Ein 6 French steuerbarer 8-poliger Katheter (Bard Electrophysiology, Lowell, MA, USA) wurde über eine der kurzen 8 French venösen Schleusen in dem Koronarsinus platziert. Mit der 8 French langen Schleuse wurde die transseptale Punktion durchgeführt und anschließend als Zugang zum linken Vorhof verwendet. Ein 7 French decapolar Lasso Katheter (Biosense Webster, Diamond Bar, CA, USA) oder ein Orbita Katheter (Bard Electrophysiology, Lowell, MA, USA) wurde über die transseptal liegende Schleuse in den Vorhof gebracht und unter selektiver Pulmonalvenen Venographie dazu verwendet, die dreidimensionale elektroanatomische Karte des Vorhofs zu erstellen. Dazu wurde entweder das Programm Cartosound von Biosense Webster oder das Programm EnSite Navex (St. Jude Medical, St. Paul, MN, USA) eingesetzt. Es wurden zirkumferierende Ablationslinien mit einem 3,5 mm irrigated-tip Katheter (ThermoCool, Biosense Webster), einem Safire (St. Jude Medical, St. Paul, MN, USA), einem Cool flex

(St. Jude Medical, St. Paul, MN, USA) oder einem Cool path duo Katheter um die Pulmonalvenen gezogen. Bei Bedarf wurde eine Ablationslinie im Dach des Vorhofs gezogen, sowie einzelne Punkte, an denen komplexe fraktionierte Elektrogramme (CFAE) gemessen werden konnten, ablatiert. Die Radiofrequenzenergie wurde auf eine Energie von maximal 40 W eingestellt und an derselben Position nicht für länger als 20 Sekunden ablatiert. Die Temperatur wurde dabei auf maximal 43 °C limitiert. Falls durch die Ablation kein Sinusrhythmus erreicht werden konnte, so wurde eine direct current cardioversion (DCC) am Ende der Prozedur durchgeführt.

Nach der Radiofrequenz-Ablation wurden alle Patienten körperlich untersucht und mit einem EKG überwacht. Es folgten eine transthorakale Ultraschalluntersuchung sowie eine Duplexsonographie der Stelle, an der die Schleusen in die Gefäße eingeführt wurden. Blutungen wurden gemäß der REPLACE-2 Klassifikation (Maroo und Am Lincoff 2004) eingeteilt. Die Patienten wurden 2 bis 3 Tage nach dem Eingriff entlassen.

2.4 Probenmanagement

2.4.1 Probengewinnung

2.4.1.1 Erste Probe

Nach Punktion und Legen der Schleusen wurde den noch nicht heparinisierten Patienten über eine der bereits gespülten Schleusen ein Vorlauf von 10 ml Blut entnommen und verworfen. Im Anschluss wurde mit einer Braun Omnifix 20 ml Spritze und einer Braun Omnifix 10 ml Spritze die erste Blutprobe entnommen. Im Anschluss wurde die Schleuse wieder mit isotoner Kochsalzlösung gespült. Die Blutproben wurden auf die in 2.4.2 genannten Proberöhrchen verteilt.

2.4.1.2 Zweite und dritte Probe

10 Minuten nach erstmaliger Heparin-gabe wurde die zweite Blutprobe aus einer der gespülten Schleusen nach erneutem Vorlauf von 10 ml Blut wie bei 2.4.1.1 gewonnen.

Eine Stunde nach erstmaliger Heparin-gabe wurde die dritte Blutprobe nach selbigem Schema wie Blutprobe 1 bzw. 2 gewonnen.

2.4.1.3 Vierte Probe

6 Stunden nach erstmaliger Heparin-gabe wurde den nun auf Station liegenden Patienten über eine der drei venösen Schleusen, nach Vorlauf von 10 ml Blut, direkt über einen Sarstedt Blutentnahmeröhrchen-Adapter (Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland) in die in 2.4.2 genannten Röhrchen die vierte Blutprobe entnommen.

2.4.2 Probenaufteilung

Die Blutproben wurden unmittelbar nach deren Gewinnung auf vier 5 ml S-Monovette Citrat Röhrchen, ein 3,8 ml S-Monovette PFA (Plättchenfunktionsanalytik) Röhrchen, ein 2,7 ml S-Monovette r-Hirudin Röhrchen (Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland) sowie ein 3 ml Citrat-DTI (direct thrombin inhibitor) Röhrchen (American Diagnostica GmbH, Sekisui Diagnostics, Lexington, MA, USA) aufgeteilt.

Dazu wurde jeweils die Schraubkappe der Blutentnahmeröhrchen entfernt, Blut bis zur Befüllungsmarke zugegeben, und anschließend die Schraubkappe wieder angebracht und der Inhalt im Röhrchen durch schwenken vermischt.

2.4.3 Probentransport und Verarbeitung

Eines der vier 5 ml Citrat Röhrchen, das 3,8 ml PFA Röhrchen, sowie das 2,7 ml r-Hirudin Röhrchen wurden nach Entnahme zur Klinischen Chemie des Deutschen Herzzentrums München gebracht. Das 5 ml Citrat Röhrchen wurde daraufhin bei Zimmertemperatur mit 2000 Umdrehungen pro Minute für 10 Minuten zentrifugiert und im Anschluss dekantiert.

Die übrigen drei 5 ml Citrat Röhrchen, sowie das 3 ml Citrat-DTI Röhrchen wurden in das Labor der Experimentellen Kardiologie des Deutschen Herzzentrums München transportiert. Dort wurden sie bei 3400 RPM für 15 Minuten zentrifugiert. Hierbei war die Bremse der Zentrifuge ausgeschaltet, um nicht das Thrombozytenarme Plasma mit dem

Trombozytenreichen Plasma beim Abbremsen zu vermischen. Anschließend wurde das thrombozytenarme Plasma der einzelnen Röhren auf Eppendorf-Hütchen aufgeteilt und bei -80 °C eingefroren. Die angesammelten Plasmaproben wurden in einer Styroporkiste auf Trockeneis gelegt und mit dem FedEx® Gefahrguttransport an das Department of Clinical Chemistry and Haematology an das University Medical Center Utrecht in den Niederlanden verschickt.

2.5 Diagnostik

2.5.1 Koagulationsparameter

2.5.1.1 Anti-Faktor-Xa-Konzentration

Die Anti Faktor Xa Konzentration wurde batchweise an Plasmaproben gemessen, die zuvor in Eppendorfhütchen bei -40 °C eingefroren wurden. An einem Siemens BCS® System (Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn) wurde Chromogen mit dem Coamatic® Heparin Test der Firma Chromogenix Instrumentation Laboratory SpA (Milano, Italien), der die Anti Faktor Xa Konzentration misst, bestimmt. Hierfür wurde Faktor Xa und ein chromatisches Reagenz zum Plasma hinzugefügt. Die nicht inhibierten Faktor Xa Anteile interagieren mit dem chromatischen Reagenz, und durch die Absorbtionsänderung von Licht mit einer Wellenlänge von 405 nm, wird die Konzentration von Apixaban bzw. Rivaroxaban berechnet. Dazu wurden die Kalibratoren Technoview® Rivaroxaban und Technoview® Apixaban von der Firma Technoclone GmbH (Wien, Österreich) verwendet. Die Kalibratoren haben einen Nachweisbereich von 0 bis 500 ng/ml (Technoclone GmbH 2013).

2.5.1.2 Globale Koagulationstests

An einem Siemens BCS® System (Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn) wurden folgende Tests durchgeführt:

- Als koagulometrischer Test wurde die TPZ mithilfe des Siemens Innovin® Reagenz bestimmt. Der Referenzbereich dieses Tests wird vom Hersteller mit 70-130 % angegeben. Das Innovin® Reagenz ist empfindlich auf die Gerinnungsfaktoren II, V, VII, X sowie Fibrinogen (Faktor I). Innovin® wird von Heparin bis zu einer Konzentration von 2 IU/ml nicht beeinflusst. (Siemens Helthcare Diagnostics Inc. 2013)
- Der International Normalized Ratio (INR) wurde ebenso mit dem Siemens Innovin® Reagenz bestimmt. Es handelt sich dabei um einen koagulometrischen Test, der durch die TPZ mit INR Kalibration bestimmt wurde.
- Die aPTT ist ein koagulometrischer Test, der mithilfe des Siemens Parthrombin® SL Reagenz bestimmt wurde. Der Referenzbereich dieses Tests wird vom Hersteller mit 26 - 39 Sekunden angegeben. Die aPTT erfasst die Gerinnungsfaktoren VIII, IX, XI, XII, Präkallikrein, sowie das High-molecular-weight-Kininogen (HMWK) (Siemens Helthcare Diagnostics Inc. 2013). Die Messung wurde nach 150 Sekunden abgebrochen. Waren Proben nach dieser Zeit noch nicht geronnen, so wurde eine Zeit von 199 Sekunden für sie angenommen und eingetragen.
- Ein Kalibriertes Automatisiertes Thrombogram® (CAT) wurde an einem Fluoroskan Ascent® Microplate Fluorometer (Thermo Fisher Scientific, Cleveland, OH) mit der Thrombinoscope® Software (Diagnostica Stago S.A.S, Asnières sur Seine, Frankreich) erstellt. Als Reagenz wurde das Thrombinoscope® CAT PPP Reagenz (Diagnostica Stago S.A.S, Asnières sur Seine, Frankreich) verwendet. Dieses enthält Gewebsthromboplastin und Phospholipide. Als Testverfahren diente die Thrombingenerierung nach Hemker (Hemker et al. 1993). Die maximal entstehende Thrombin Konzentration wurde als CAT Peak durch das System aufgezeichnet und in nmol/l angegeben. Die Fläche unter der Thrombinkonzentrationskurve wurde als Endogenes Thrombinpotential (ETP) erfasst und in nmol x min/l angegeben.

2.5.2 Aktivitätsmarker für Koagulation und Fibrinolyse

An einem Siemens BCS® System (Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn) wurden folgende Tests durchgeführt:

- Fibrinogen wurde durch die Methode nach Clauss (Miesbach et al. 2010) mithilfe des Siemens Multifibren® Reagenz bestimmt. Dabei wurde Citratplasma mit einem Überschuss an Thrombin zur Gerinnung gebracht. Die Gerinnungszeit, die zur Bestimmung der Fibrinogen Konzentration herangezogen wurde, hängt weitgehend vom Fibrinogengehalt der Probe ab. Der Referenzbereich dieses Tests wird vom Hersteller mit 180 – 350 mg/dl angegeben. (Siemens Helthcare Diagnostics Inc. 2013)
- Die Antithrombin Bestimmung erfolgte mit dem Innovance® Antithrombin Reagenz. Für den Test wurde Citratplasma mit einem Überschuss an Faktor Xa versetzt. Die Anwesenheit von Heparin in der Probe führt dazu, dass ein Teil des zugesetzten Faktor Xa Enzyms durch Antithrombin inaktiviert wird. Der überschüssige, nicht inaktivierte Faktor Xa spaltet ein zugegebenes, chromogenes Substrat, welches zu einer Farbstofffreisetzung führt. Die Extinktionszunahme bei Licht mit 405 nm Wellenlänge gibt Aufschluss über die Geschwindigkeit der Substratspaltung. Der Referenzbereich dieses Tests wird vom Hersteller mit 83 - 118 % der Norm angegeben (Siemens Helthcare Diagnostics Inc. 2013).
- Die quantitative, immunturbidimetrische Bestimmung der quervernetzten Fibrinspaltprodukte (D-Dimere) erfolgte mit dem Siemens Innovance® D-Dimer Reagenz. Die untere Nachweisgrenze liegt bei 0,2 mg/l. Der Referenzbereich dieses Tests wird vom Hersteller mit < 0,55 mg/l angegeben (Siemens Helthcare Diagnostics Inc. 2013). Liegen die D-Dimer Konzentrationen unter 0,2 mg/l, so wurde für diese Proben ein von Wert 0,05 mg/l eingetragen.

Die Prothrombinfragment F1+F2 Analyse wurde an einem Siemens BEP2000® (Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn) durchgeführt. Dazu wurde im Vorfeld ein Teil des Vollbluts des 3,8 ml PFA Röhrchens mit 2000 RPM bei Raumtemperatur für 10 Minuten zentrifugiert und dekantiert. Das Plasma wurde in ein Eppendorfhütchen pipettiert und bei -40 °C eingefroren. Für die spätere folgende Prothrombinfragment F1+F2 Analyse wurde dann in einem Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) das Reagenz Enzygnost® F1+F2 (monoclonal) verwendet. In diesem ELISA binden die während der ersten Inkubation im Plasma vorhandenen F1+F2-Antigene an die Antikörper gegen

F1+F2. Anschließend wurde ausgewaschen und Peroxidase konjugierte Antikörper hinzugefügt, die an die freien F1+F2 Determinanten binden. Die gebundene Enzymaktivität wurde über die Farbintensität chromogen ermittelt und in die F1+F2 Konzentration umgerechnet. Die obere Nachweisgrenze lag bei 1200 pmol/l. Liegen einzelne Proben über diesem Wert, so wurden für diese 1250 pmol/l eingetragen. Der Referenzbereich wird vom Hersteller mit 69 - 229 pmol/l angegeben. (Siemens Healthcare Diagnostics Inc. 2013)

2.5.3 Thrombelastometrie

Aus dem 3,8 ml PFA Röhrchen wurden an einem ROTEM® System (Tem Innovations GmbH, München) Thrombelastogramme erstellt. Dazu wurde eine Küvette mit 300 µl einer Vollblutprobe gefüllt, mit 20 µl des 0,2 M Kalziumchlorid star-TEM® Reagenz (Tem Innovations GmbH, München) rekalkifiziert und die im Folgenden genauer beschriebenen zusätzlichen Testreagenzien zugegeben. Die Küvette wurde an einen vom Analysegerät drehbaren, zylindrischen Stempel angeschlossen. Zwischen Stempel und Küvettenwand blieb ein 1 mm breiter Spalt, in dem sich Gerinnsel bilden konnten. Durch die Gerinnselbildung wurde die Drehung des Stempels zunehmend eingeschränkt, was durch das Analysegerät über eine Lichtquelle und einen Detektor optisch erfasst und aufgezeichnet wurde. Es wurde die Zeit festgehalten, zu der die Gerinnselfestigkeit vom ROTEM® System eine Amplitude von 2 mm aufwies. Es handelt sich dabei um die Clotting Time (CT). Als Clot Formation Time (CFT) wird die Gerinnselbildungszeit bezeichnet. Sie wurde bei einer Amplitude von 20 mm festgehalten. Die Maximum Clot Firmness (MCF), oder auch Maximale Gerinnselfestigkeit, steht für die größte vom Gerät aufgezeichnete Amplitude und wird in mm angegeben. Der Alpha-Winkel ist die Steigung zwischen den Amplituden der CT und der CFT und wurde somit durch die Zeit beeinflusst, die verstrich, während die Amplitude von 2 mm (CT) auf 20 mm (CFT) stieg.

Es wurden 3 unterschiedliche Tests am ROTEM® System durchgeführt:

- Für das EXTEM wird die Gerinnung durch Zugabe von Thromboplastin aus Zellen von Hasengehirnen (ex-TEM®, Tem Innovations GmbH, München) aktiviert. Das

Thromboplastin bindet den Faktor VII in Anwesenheit von Kalziumionen, wodurch der aktivierte Faktor VII (VIIa) entsteht (Alves Coelho, Maria Caroline et al. 2014).

- Für das INTEM wird durch Zugabe von partiellem Thromboplastin (entspricht Phospholipiden ohne gebundenem Faktor III), gewonnen aus Zellen von Hasengehirnen und Ellagsäure (in-TEM®, Tem Innovations GmbH, München), die Gerinnung aktiviert. Die Phospholipide aus dem Reagenz dienen als Kontaktphase für den Faktor XII, der dadurch aktiviert wird (Alves Coelho, Maria Caroline et al. 2014).
- Für das FIBTEM wird das Reagenz fib-TEM®, (Tem Innovations GmbH, München) zugegeben, in dem Cytochalasin D enthalten ist. Cytochalasin D hemmt die Thrombozytenfunktion, indem es die Einlagerung von mehreren Proteinarten in das Zytoskelett der Thrombozyten verhindert (May et al. 1998). Durch die Neutralisierung der Thrombozytenfunktion ist eine genauere Aussage über die Fibrinogenfunktion möglich (Alves Coelho, Maria Caroline et al. 2014).

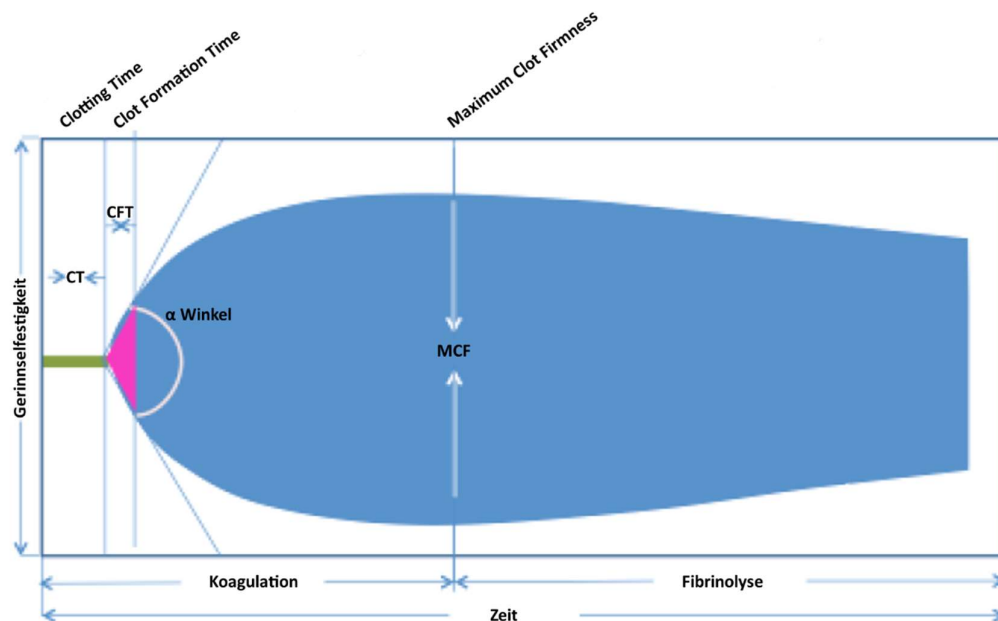


Abbildung 2-1: Thrombelastogramm Diagramm (gemäß Alves Coelho, Maria Caroline et al. 2014)

2.5.4 Impedanz Aggregometrie

Etwa 10 Minuten nach Eintreffen des 2,7 ml r-Hirudin Röhrchens in der Klinischen Chemie wurde an der Blutprobe mit dem Multiplate® Analyzer der Roche Diagnostics GmbH (Mannheim) folgende impedanzaggregometrischen Thrombozytenfunktionstests durchgeführt:

- Für den ADP (Adenosindiphosphat) Test wurde die Probe zusammen mit ADP Testreagenz (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim) in eine der Multiplate Test Cells gegeben. Das ADP Reagenz löst die Plättchenaktivierung über purinergische Rezeptoren P_2Y_1 und P_2Y_{12} auf den Thrombozyten aus (Ruggeri 2002). Die aktivierten Plättchen lagern sich an die Sensordrähte an, wodurch es zu einer Widerstandserhöhung zwischen den Sensordrähten kommt, die vom Multiplate® Analyzer, als Area under the Curve (AUC) bzw. als Arbitrary Units (AU x min), aufgezeichnet wird. Der Referenzwert wird vom Hersteller mit 570 – 1130 AU x min angegeben (Roche Diagnostics GmbH 2012).
- Beim ASPI Test wurde ähnlich verfahren, wie bei dem oben erwähnten ADP Test. Als Testreagenz diente jedoch das ASPI Testreagenz (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim) in dem Arachidonsäure enthalten ist. Durch die Thrombozytenoxagenasen wird diese zu Thromboxan A₂ umgewandelt und es kommt ebenfalls zur Plättchenaktivierung (Guyer 2009). Der Referenzwert liegt laut Hersteller zwischen 710 – 1150 AU x min (Roche Diagnostics GmbH 2012).
- Für den TRAP Test wurde folglich das TRAP Reagenz (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim) verwendet, in dem das Thrombinrezeptor-aktivierende Peptid 6 (TRAP 6) enthalten ist. Dieses stimuliert den Protease-aktivierenden Rezeptor 1 (PAR-1), wodurch die Thrombozyten aktiviert werden (Kinlough-Rathbone et al. 1993). Als Referenz gibt der Hersteller einen Rahmen von 840 – 1280 AU x min an (Roche Diagnostics GmbH 2012).
- Das COL Testreagenz (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim) enthält Kollagen Typ 1, an das sich die Glykoprotein VI-Membranrezeptoren der Thrombozyten anla-

gern. Mediatoren, wie ADP und Serotonin, werden freigesetzt und es kommt zur weiteren Aktivierung der Thrombozyten (Storey et al. 1998). Der Referenzwert für das Testergebnis wird vom Hersteller mit 720 – 1250 AU x min angegeben (Roche Diagnostics GmbH 2012)

2.5.5 Weitere Thrombozytenfunktionstests und Gerinnungsfaktormessungen

2.5.5.1 Faktor VII und Faktor VIIa Messung

Die Konzentration von Faktor VII und aktivierten Faktor VII (VIIa) wurde am Department of Clinical Chemistry and Hematology des University Medical Center Utrecht bestimmt. Hierbei wurde, wie von Hyseni et al beschrieben, ein halbautomatisches ELISA an einem Tecan Freedom EVO® Roboter (Tecan, Männedorf, Schweiz) durchgeführt (Hyseni et al. 2013). Für die FVIIa Messung kam ein neues, quantitatives Assay zum Einsatz, das nur aktivierten Faktor VII, und nicht Faktor VII, in seiner normalen Konformation erkennt. Dafür wurden im Vorfeld Antikörper gegen FVIIa aus immunisierten Lamas gewonnen. Die Immunisierung erfolgte mit rFVIIa (Novo Nordisk, Bagsvaerd, Denmark) nach standardisierten Immunisierungsprotokollen, wie sie von Arbabi Ghahroudi et al (Arbabi Ghahroudi et al. 1997) beschrieben wurden. Die Phagen-Display Methode, wie von Hoogenboom et al (Hoogenboom et al. 1998) beschrieben, wurde angewandt, um Phagen zu selektieren, die speziell FVIIa binden, ohne mit FVII zu interagieren. Das Bakterium Escherichia Coli wurde eingesetzt, um die variable Region der löslichen schweren Kette (heavy chain variable domains, VHH) der Antikörper herzustellen. Dies wurde, wie von El Khattabi et al (El Khattabi et al. 2006) beschrieben, durchgeführt. Durch Fusion von VHHs mit einem Glycin Binder wurden zweiwertige VHHs, wie von Hultberg et al (Hultberg et al. 2011) beschrieben, erzeugt.

Nach deren Herstellung wurden die Antikörper gegen FVIIa in phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS - phosphate-buffered saline) mit 0,05 % Polysorbat 20 gewaschen und anschließend mit einem 2 prozentigem Rinderserumantigen (BSA - bovine serum

antigen)/PBS für zwei Stunden geblockt. Das Polysorbat 20 sowie das Rinderserumalbumin wurden von Sigma (Zwijndrecht, Niederlande) erworben. Im Folgenden wurden die Plasmaproben 4-fach für die FVIIa und 20-fach für die FVII Analyse in PBS/ 1 % BSA verdünnt und für weitere zwei Stunden inkubiert. Um eine Kalibrationskurve für die FVIIa Messung zu erstellen, wurde rFVII verwendet. Für die FVII Analyse wurde eine Kalibrationskurve mithilfe von normiertem Poolplasma (normal pooled plasma - NPP) erzeugt. Die FVII Konzentration im NPP lag bei 0,5 µg/ml. Fünf weitere Waschprozesse in PBS/ 0,5 % Polysorbat 20 folgten. Für den FVIIa Nachweis wurde ein polyklonaler Hühnerantikörper (1:5000-fache Verdünnung, Abcam, Camebridge, UK) verwendet. Ein Polyklonaler HRP markierter Antikörper gegen FVII wurde bei der FVII Messung eingesetzt. Anschließend wurde in PBS gewaschen. Für die Messung des FVIIa wurde zusätzlich mit einem Esel anti-Hühner Antikörper, der mit HRP verbunden war (1:5000-fache Verdünnung; Jackson Immuno Research, West Grove, PA, USA), inkubiert. Es folgte ein weiterer Waschprozess in PBS wie bereits zuvor beschrieben. Die HRP Aktivität wurde mit dem Super-Signal ELISA pico Chemolumineszens Substrat (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) durch einen SpectraMax Mikrotiterplattenleser analysiert (MDS Analytical Technologies/Molecular Devices, Sunnyvale, CA) (Hyseni et al. 2013; Hyseni et al. 2014)

2.5.5.2 VWF und aVWF Messung

Die Konzentration von VWF und aktivierten VWF (aVWF) wurde am Department of Clinical Chemistry and Hematology des University Medical Center Utrecht bestimmt.

Die Plasma Konzentration des aktivierten Von-Willebrand-Faktor (aVWF) wurde mit einem nicht automatisiertem ELISA ermittelt, wobei genauso vorgegangen wurde als ob dieses halbautomatisch durchgeführt worden wäre. Für die aVWF Messung kam ein spezieller Beschichtungsantikörper zum Einsatz. Dieser sogenannte A11 Nanoantikörper bindet speziell an die A1 Domäne des VWF, die sich in der GpIb Bindungs Konformation befindet und nicht in der inaktiven Ruhe-Konformation. Der Antikörper wurde, wie von Hulstein et al. beschrieben, vorbereitet (Hulstein, Janine J J et al. 2005). Nach deren Herstellung wurden die Antikörper gegen aVWF in phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS - phosphate-buffered saline) mit 0,05 % Polysorbat 20 gewaschen und anschließend

mit einem 2 prozentigem Rinderserumantigen (BSA - bovine serum antigen)/PBS für zwei Stunden geblockt. Das Polysorbat 20 sowie das Rinderserumalbumin wurden von Sigma (Zwijndrecht, Niederlande) erworben. Im Folgenden wurden die Plasmaproben 10-fach für die aVWF Messung in PBS/ 1 % BSA verdünnt und für weitere zwei Stunden inkubiert. Um eine Kalibrationskurve für das aVWF Assay zu erstellen, wurde rekombinanter VWF typ 2 B (R1306Q) in VWF armen Plasma verdünnt. Dieses wurde, wie von Hulstein et al. beschrieben, hergestellt. (Hulstein, Janine J J et al. 2005). Fünf weitere Waschprozesse in PBS/ 0,5 % Polysorbat 20 folgten. aVWF wurde mit einem polyklonalem Horseradish Peroxidase (HRP) Antikörper gegen VWF (Dako, Glostrup, Dänemark) detektiert. Anschließend wurde in PBS gewaschen. Es folgte ein weiterer Waschprozess in PBS wie bereits zuvor beschrieben. Die HRP Aktivität wurde mit dem Super-Signal ELISA pico Chemolumineszens Substrat (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) durch einen SpectraMax Mikrotiterplattenleser analysiert (MDS Analytical Technologies/Molecular Devices, Sunnyvale, CA) (Hyseni et al. 2013; Hyseni et al. 2014)

Die Plasmakonzentrationen von VWF wurden mit einem halbautomatischen ELISA von einem Tecan Freedom EVO® Roboter (Tecan, Männedorf, Schweiz) gemessen. (Hyseni et al. 2013). Es wurden Fängerantikörper sowie polyklonale Hase anti-Humane VWF Antikörper (A0082) (DAKO, Glusdorf, Dänemark) auf Nunc maxisorb ELISA Platten (Thermo Fisher Scientific, Roskilde, Dänemark) über Nacht aufgetragen. Die nicht gebundenen Antikörper wurden in fünf Waschgängen mit PBS/0,5 % Polysorbat 20 entfernt. Die Plasmaproben wurden 1 zu 20, 1 zu 40, 1 zu 80 und 1 zu 160 für die VWF:Ag Analyse verdünnt. Die verdünnten Plasmaproben wurden in zweifacher Ausführung zu den ELISA Platten mit den entsprechenden Antikörpern hinzugefügt. Um zwei Kalibrationskurven für jede einzelne Platte zu erhalten, wurden Verdünnungsreihen aus standardisierten Plasmaproben bzw. aus NPP mit bekannten VWF:Ag Konzentrationen erstellt. Die VWF:Ag Verdünnung wurde mit PBS/0,05 % Polysorbat 20/3 % BSA durchgeführt. Drei Waschgänge mit PBS/0,5 % Polysorbat 20 folgten, um die ungebundenen Antigene für die VWF:Ag Messung zu entfernen. Als sekundäre Antikörper wurden polyklonale Hase anti-Humane VWF HRP Antikörper zu den Platten hinzugefügt und für 1 Stunde inkubiert. Nach weiteren drei Waschgängen wurde aktiviertes Ortho-phenyldiamin (OPD) Reagenz zur Färbung zugegeben. Nach 3 Minuten Inkubation wurde die Färbung

mittels H₂SO₄ (Mallinckrodt Baker Inc., Deventer, Niederlande) abgebrochen. Die Emission wurde bei 490 nm mit einem VersaMax Tunable Microplate Leser von Molecular Devices Inc. (Silicon Valley, CA, USA) erfasst.

Die Daten der fluoreszenzaktivierten Zellanalyse wurden mit der BD FACSDiva Software 6.1.2 (BD Biosciences) quantifiziert.

2.5.5.3 Beta-Thromboglobulin, Lösliches P-Selektin, und Thrombospondin-1 Messung

Die Plasmakonzentrationen von beta-Thromboglobulin Chemokin C-X-C motif Ligand 7 (CXCL7) und löslichem P-Selektin (SP-Selektin) (DY137 Duoset) (R&D Systems, Abingdon, Vereinigtes Königreich) wurden mit einem halbautomatischen ELISA von einem Tecan Freedom EVO® Roboter (Tecan, Männedorf, Schweiz) gemessen. (Hyseni et al. 2013)

Fängerantikörper, gereinigte monoklonale Maus anti-Humane CXCL7 Antikörper, Maus anti-Humane Thrombospondin-1 Antikörper und Maus anti-Humane P-Selektin Antikörper wurden jeweils auf separaten Nunc maxisorb ELISA Platten (Thermo Fisher Scientific, Roskilde, Dänemark) über Nacht aufgetragen. Die nicht gebundenen Antikörper wurden in fünf Waschgängen mit PBS/ 0,5 % Polysorbat 20 entfernt. Die Plasmaproben wurden 1 zu 75 für die CXCL7 Analyse und 1 zu 10 für die SP-Selektin verdünnt. Die verdünnten Plasmaproben wurden in zweifacher Ausführung zu den ELISA Platten mit den entsprechenden Antikörpern hinzugefügt. Um zwei Kalibrationskurven für jede einzelne Platte zu erhalten, wurden Verdünnungsreihen aus standardisierten Plasmaproben bzw. aus NPP mit bekannten CXCL7 und SP-Selektin Konzentrationen erstellt. Für die SP-Selektin und CXCL7 Verdünnung wurde PBS/1 % BSA Lösung verwendet. Nicht gebundene Antigene wurden anschließend durch fünf Waschgänge mit PBS/ 0,5 % Polysorbat 20 für die Thrombospondin 1, SP-Selektin und CXCL7 Messung entfernt. Die Nachweisantikörper, die Maus anti-Humanen P-Selektin Antikörper, die Biotin gekoppelten Ziege anti-Humanen Thrombospondin-1 Antikörper und die Biotin gekoppelten Ziege anti-Humanen NAP2 Antikörper wurden zu den korrespondierenden Platten hinzugefügt. Nach weiteren fünf Waschgängen mit PBS mit 0,5 % Polysorbat 20 wurden die

Hase anti-Ziege-HRP Antikörper (P0449) oder die Streptavidin-poly-HRP Antikörper (P0397) (DAKO, Glostrup, Dänemark) hinzugefügt und eine Stunde abgewartet, damit die Nachweisantikörper bzw. der Biotin gekoppelten Nachweisantikörper gebunden werden konnte. Es folgten fünf weitere Waschgänge. Für die CXCL7 Messung wurde das Amplex Ultrared Reagenz (Invitrogen, Breda, Niederlande) hinzugefügt und für 75 Minuten inkubiert, bevor die Fluoreszenzintensität durch ein Fluostar Galaxy Fluorimeter (MBG Labtech GmbH, Offenburg, Deutschland) bei 490 nm Emission und 520 nm Exzitation gemessen wurde. Für die SP-Selektin Messung wurde das SuperSignal ELISA Pico Chemilumineszenz Substrat (Thermo Fisher Scientific Inc. Rockford, IL, USA) hinzugefügt. Die Lumineszenz wurde nach einer Inkubationzeit von 60 Minuten bei 490 nm Emission mit einem SpectraMax L microplate Leser (Molecular Devices Inc., Silicon Valley, CA, USA) erfasst.

Die Daten der fluoreszenzaktivierten Zellanalyse wurden mit der BD FACSDiva Software 6.1.2 (BD Biosciences) quantifiziert.

2.6 Definition der klinischen Komplikationen

Blutungskomplikationen wurden gemäß den Definitionen aus der REPLACE-2 Studie klassifiziert, wobei zur weiteren Differenzierung das Kriterium „Perikarderguss“ hinzugefügt wurde (Exaire et al. 2006). Die Definitionen lauten wie folgt:

Schwerwiegende Blutungskomplikationen:

- Jegliche Blutungen, die eine Bluttransfusion zur Folge haben
- Retroperitoneale Blutungen und Hämatome, die einen chirurgischen Eingriff benötigen
- Perikardergüsse/Perikardtamponaden, die einer Drainage bzw. eines chirurgischen Eingriffs bedürfen.
- Intrakranielle Blutungen

Leichte Blutungskomplikationen:

- Hämatome (> 5 cm) ohne Bedarf einer Bluttransfusion oder eines chirurgischen Eingriffs
- Perikardergüsse (> 5 mm) die keiner Intervention bedürfen.

Embolische Komplikationen:

- Zerebrovaskuläre Ereignisse und Transitorische ischämische Attacken (Computertomographie (CT) oder Magnetresonanztomographie (MRT) durchgeführt und Diagnosesicherung durch Neurologen)
- Tiefe Venenthrombose und Lungenembolie
- Peripher-arterielle Embolie

2.7 Statistische Auswertung

Die Daten sind bei kontinuierlichen Variablen, die nach Gauß normalverteilt sind, als Mittelwerte mit Standardabweichungen angegeben. Nicht normalverteilte kontinuierliche Variablen sind als Median zusammen mit dem Interquartilsabstand dargestellt. Kategorishe Daten sind als exakte Zahlen mit Prozentangaben angegeben. Kontinuierliche Variablen wurden mithilfe des Mann-Whitney-U-Tests verglichen. Dichotome Variablen wurden unter Anwendung des Chi-Quadrat-Tests verglichen. Für die Statistische Auswertung der Daten wurde die Microsoft Office Excel- (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) und IBM SPSS Software (IBM SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) verwendet. Für alle Analysen wurde ein p-Wert von 0,05 als statistisch signifikant angesehen.

3 Ergebnisse

3.1 Charakteristika des Patientenkollektivs (Tabelle 1)

Der Altersdurchschnitt der 90 an der Studie beteiligten Patienten lag bei 61 ± 12 Jahren (60 ± 12 Jahre in der Rivaroxaban-Gruppe und bei 64 ± 9 Jahre in der Apixaban-Gruppe, p-Wert = 0,27). 71 % der Rivaroxaban-Patienten und 47 % der Apixaban-Patienten waren männlich, dieser Unterschied war jedoch nicht statistisch signifikant. Die einzelnen Parameter, die durch den CHA₂DS₂-VASc Score erfasst werden, waren in beiden Gruppen vergleichbar. Der mittlere CHA₂DS₂-VASc Score war signifikant niedriger bei Patienten, die Rivaroxaban erhielten, im Vergleich zu Patienten unter Apixaban Einnahme ($1,8 \pm 1,5$ Rivaroxaban; $2,2 \pm 1,5$ Apixaban; p = 0,02). Aufgrund der Tatsache, dass Patienten aus der Rivaroxaban-Gruppe vergleichsweise leicht vergrößerte mittlere LVEF aufwiesen (59 ± 5 % Rivaroxaban; 57 ± 6 % Apixaban; p = 0,05) und seltener an einer koronaren Herzerkrankung litten (15 % Rivaroxaban; 47 % Apixaban; p < 0,01), erhielten sie weniger Diuretika (19 % Rivaroxaban; 47 % Apixaban; p = 0,02) und weniger Acetylsalicylsäure und Clopidogrel (ASS: 15 % Rivaroxaban; 35 % Apixaban; p = 0,06 – Clopidogrel: 0 % Rivaroxaban; 6 % Apixaban; p = 0,04). Alle weiteren Ausgangscharakteristika der Patienten waren in den beiden Gruppen vergleichbar.

3.2 Prozedur Variablen (Tabelle 2)

Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in den vorliegenden Herzrhythmen bei Aufnahme der Patienten im elektrophysiologischen Untersuchungslabor. Dies galt genauso für die Prozedurdauer, die Durchleuchtungsdauer, die Radiofrequenz-Ablationszeit sowie die Anzahl an intraprozeduralen Kardioversionen. Die anatomischen Strukturen im Herzen, an denen ablatiert wurde, um die Rhythmusstörung zu therapieren, unterschieden sich nicht signifikant zwischen beiden Gruppen.

3.3 Heparin-gabe und ACT-Messungen (Tabelle 3)

Die Ausgangs-ACT war bei Patienten signifikant länger, die Rivaroxaban erhielten (149 sek; 140-195), im Vergleich zu Patienten, die mit Apixaban therapiert wurden (130 sek; 115-171; p -Wert = 0,02). Während der Ablationsprozedur war die mittlere ACT (ohne Einberechnung der Ausgangs-ACT) bei Patienten der Rivaroxaban-Gruppe signifikant länger, im Vergleich zu Patienten der Apixaban-Gruppe (260 sek; 237-278; vs. 234 sek; 223-250; p-Wert < 0,01). Es konnten keine signifikanten Unterschiede in den Mittelwerten der maximalen ACT zwischen beiden Gruppen während der Prozedur festgestellt werden. Die Menge an unfraktioniertem Heparin pro Kilogramm Körpergewicht, die benötigt wurde, um eine therapeutische ACT während der Prozedur aufrecht zu erhalten, unterschied sich nicht signifikant zwischen beiden Gruppen (Rivaroxaban 9125 IE; 6838-12288; Apixaban 11350 IE; 7700-13650; p-Wert = 0,06). Ein signifikanter Unterschied lag ebenfalls nicht vor, nachdem zusätzlich zum Körpergewicht auch noch die Prozedurdauer mit eingerechnet wurde (40 IE/kg/h; 34-46; vs. 49 IE/kg/h; 35-55; p-Wert = 0,31).

3.4 Labordaten (Tabelle 4)

3.4.1 Koagulationsparameter

3.4.1.1 Anti-Faktor-Xa-Konzentration

Die Anti-Faktor-Xa-Konzentrationen waren vor Heparin-gabe zwischen der Rivaroxaban-Gruppe und der Apixaban-Gruppe vergleichbar (194 ng/ml; 138-263; vs. 197 ng/ml; 143-225; p-Wert = 0,95). Jedoch waren 10 Minuten nach dem ersten intravenös verabreichten Heparin die Anti-Faktor-Xa-Konzentrationen in der Rivaroxaban-Gruppe signifikant niedriger (216 ng/ml; 177-286) im Vergleich zur Apixaban-Gruppe (348 ng/ml, 308-392; p-Wert < 0,001). In der Apixaban-Gruppe befand sich die Anti-Faktor-Xa-Konzentration 60 Minuten nach Heparin-gabe an ihrem Höhepunkt (360 ng/ml; 346-398) und war auch bei der Messung 360 Minuten nach Heparin-gabe zum Ausgangswert erhöht (272 ng/ml; 240-315). Patienten der Rivaroxaban-Gruppe waren bei der 60 Minuten Messung bereits

fast wieder zu ihrem Ausgangswert zurückgekehrt (203 ng/ml; 163-245). Auch zu diesem Zeitpunkt war der Wert signifikant unterschiedlich im Vergleich zur Apixaban-Gruppe (p-Wert: <0,001). 360 Minuten nach Verabreichen des ersten Heparins konnte dieser signifikante Unterschied ebenfalls zwischen beiden Gruppen beobachtet werden (Rivaroxaban: 157 ng/ml; 113-189; vs. Apixaban: 272 ng/ml; 240-315; p-Wert < 0,001).

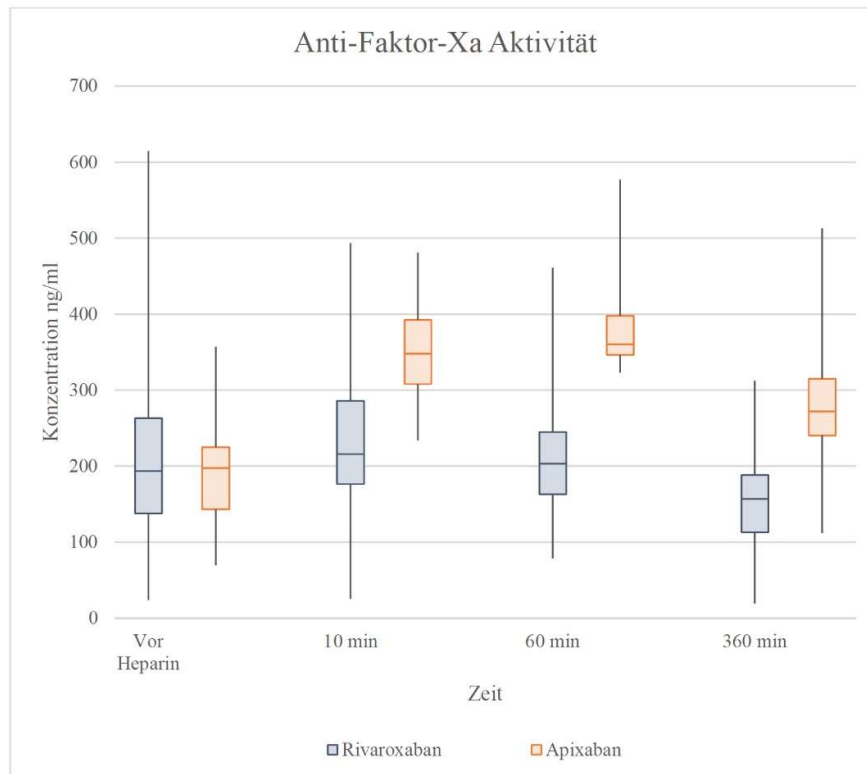


Abbildung 3-1: Anti-Faktor-Xa Konzentration in ng/ml zu den vier Messzeitpunkten.

In einem Regressionsmodell konnten die höheren Anti-Faktor-Xa-Konzentrationen der Patienten aus der Apixaban-Gruppe nicht in Verbindung mit der Menge an verabreichtem Heparin gebracht werden.

3.4.1.2 Globale Koagulationsparameter

Der INR lag bei Patienten, die Rivaroxaban erhielten, vor Heparingabe signifikant höher als bei Patienten die Apixaban verabreicht bekamen (1,2; 1,2-1,3 vs. 1,1; 1,0-1,1; p-Wert: < 0,001). Während der ersten 60 Minuten nach Heparingabe lagen die INR Werte beider

Gruppen höher als zu Beginn der Prozedur und näherten sich bei der letzten Messung wieder ihren Ausgangswerten an.

Analog zum INR verhielt sich der Verlauf der Thromboplastinzeit Messung, bei der ebenfalls die Messungen vor Verabreichen des Heparins in der Rivaroxaban-Gruppe signifikant kürzer waren (61 %; 56-71) als bei Patienten der Apixaban-Gruppe (85 %; 73-94; p-Wert < 0,001). Bei der Messung 60 Minuten nach Heparinabgabe zeigte sich in der Apixaban-Gruppe bereits eine etwas frühere Annäherung zum Ausgangswert als in der Rivaroxaban-Gruppe (53; 48-59 vs. 47; 43-53; p-Wert: 0,02).

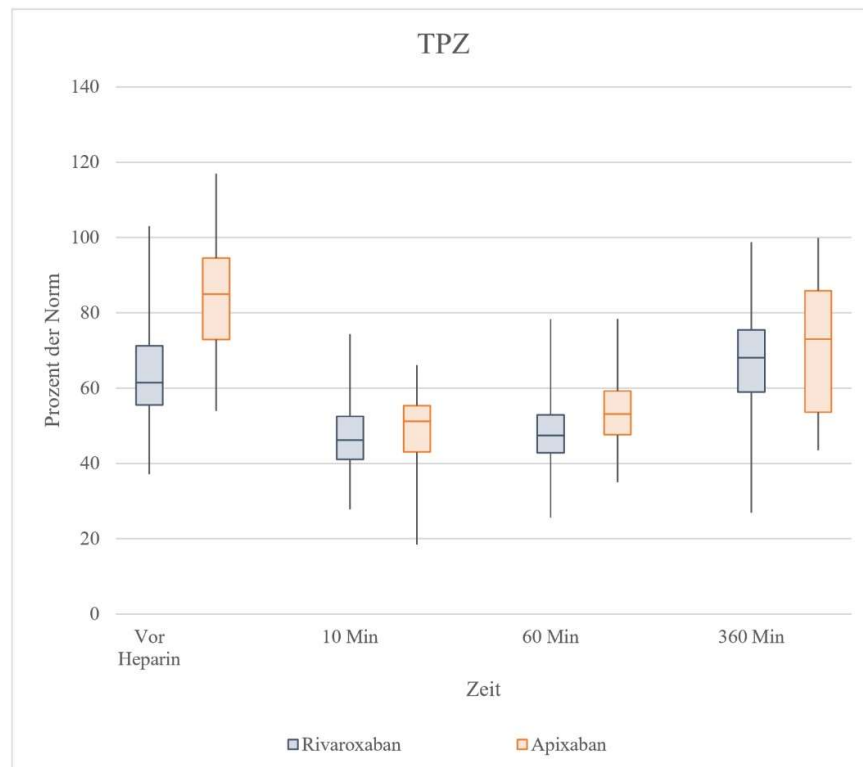


Abbildung 3-2: TPZ in % zu den vier Messzeitpunkten.

Die aPTT Messung vor Heparinabgabe war signifikant länger bei Patienten, die mit Rivaroxaban behandelt wurden, im Vergleich zu Patienten mit Apixaban Einnahme (41 s; 37-46; vs. 33 s; 31-35; p-Wert < 0,001). Zu den beiden darauffolgenden Messzeitpunkten wurde die maximale Messlänge von 150 Sekunden in beiden Gruppen überschritten.

Auch die darauffolgende aPTT Messung lieferte längere Zeiten als die Messung vor Heparinabgabe. Es ließ sich kein signifikanter Unterschied mehr zwischen beiden Gruppen beobachten.

Vor Heparinabgabe waren die Messwerte des ETP und CAT zwischen beiden Gruppen vergleichbar. 10 und 60 Minuten nach Heparinabgabe war eine Thrombin Generation in beiden Testgruppen nicht mehr nachweisbar. Das ETP der Rivaroxaban-Gruppe wich nur 360 Minuten nach Heparinabgabe signifikant von dem der Apixaban-Gruppe ab (p-Wert = 0,03). Ähnliches konnte bei der CAT Peak Messung beobachtet werden, wobei hier an demselben Messzeitpunkt die Werte der Rivaroxaban-Gruppe ebenfalls signifikant höher lagen (p-Wert = 0,01).

3.4.2 Aktivitätsmarker für Koagulation und Fibrinolyse

Vor Heparinabgabe sowie 10 Minuten nach Heparinisierung variierten die D-Dimer Konzentrationen zwischen beiden Gruppen nicht signifikant. Zu der 10 Minuten Messung ist ein stärkerer, jedoch nicht signifikanter Anstieg der D-Dimer Konzentration in der Apixaban-Gruppe beobachtbar, der sich 60 Minuten nach Heparinabgabe signifikant von der D-Dimer Konzentration der Rivaroxaban-Gruppe unterscheidet und auf eine erhöhte Aktivität von Fibrinolyse und Gerinnung hinweist (0,4 mg/l; vs. 0,3 mg/l; p-Wert < 0,01). Ebenfalls 360 Minuten nach Heparinisierung lagen die Konzentrationen der Patienten, die mit Apixaban behandelt wurden, signifikant höher (0,4 vs. 0,3 mg/l; p-Wert = 0,04).

Ähnlich wie bei der D-Dimer Messung war auch die Prothrombin Fragment F1+F2 Konzentration vor Heparinabgabe zwischen beiden Testgruppen vergleichbar. 10 Minuten nach Heparinisierung lag die Prothrombin Fragment F1+F2 Konzentration in der Rivaroxaban-Gruppe nicht signifikant unter der der Apixaban-Gruppe (142 pmol/l; 106-189; vs. 176 pmol/l; 161-183; p-Wert = 0,05). 60 Minuten nach Heparinabgabe konnte dann eine signifikant geringere Konzentration der Spaltprodukte, die bei der Umwandlung von Prothrombin zu Thrombin entstehen, in der Rivaroxaban-Gruppe ermittelt werden (143 pmol/l; 108-175; vs. 168 pmol/l; 165-233; p-Wert = 0,01). Zum letzten Messzeitpunkt waren die Werte zwischen beiden Gruppen wieder vergleichbar.

Die Konzentrationen der Thrombin-antithrombin-Komplexe waren zu allen Messzeitpunkten zwischen beiden Testgruppen vergleichbar.

Die Fibrinogen- und Anti-Thrombin III Konzentrationen unterschieden sich nicht signifikant zwischen beiden Gruppen für alle vier Messzeitpunkte.

3.4.3 Thrombelastometrie

Vor Heparin-gabe war der Thrombelastogramm Parameter - Clotting Time – des INTEM Tests signifikant länger bei Patienten aus der Rivaroxaban-Gruppe (239 s; 201-305) im Vergleich zu Patienten aus der Apixaban-Gruppe (198 s; 172-224; p-Wert < 0,01). Die MCF, gemessen vor Heparinisierung mit dem INTEM Test, war signifikant geringer bei Patienten, die Rivaroxaban-Einnahmen, im Vergleich zu Patienten, die Apixaban erhielten (56 s; 52-58; vs. 59 s; 56-62; p-Wert = 0,04).

Die ebenfalls am gleichen Zeitpunkt mit dem INTEM Test gemessene Gerinnselbildungszeit (CFT) war bei Rivaroxaban-Patienten signifikant länger (100 s; 84-117; vs. 83 s; 68-96; p-Wert = 0,04).

Der Alpha-Winkel war an dem gleichen Messpunkt in der Rivaroxaban-Gruppe signifikant kleiner als in der Apixaban-Gruppe (70°; 68-73; vs. 75°; 72-78; p-Wert = 0,02).

Für die drei weiteren Zeitpunkte nach Heparinisierung konnten mit dem INTEM Test für alle vier Parameter keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen erkannt werden.

Vor Heparinisierung war die Gerinnungszeit (CT) des EXTEM Tests signifikant länger bei Patienten, die mit Rivaroxaban behandelt wurden (106 s; 87-140), als Patienten der Apixaban-Gruppe (80 s; 77-108; p-Wert = 0,01). Alle anderen Parameter für die jeweiligen Messzeitpunkte des EXTEM Tests waren nicht signifikant unterschiedlich.

Die Parameter des FIBTEM Tests waren zwischen der Rivaroxaban-Gruppe und der Apixaban-Gruppe zu allen Messzeitpunkten vergleichbar.

3.4.4 Impedanz Aggregometrie

Die impedanzaggregometrischen Tests COL, TRAP und ASPI waren zwischen beiden Testgruppen zu allen Messzeitpunkten vergleichbar. Der Wert des ADP Tests war bei der Messung vor Heparin-gabe (710 U; 560-865; vs. 811 U; 664-952; p-Wert = 0,04) sowie 360 Minuten nach Heparinisierung signifikant kleiner bei Patienten der Rivaroxaban-Gruppe (510 U; 345-721) im Vergleich zu den Werten der Apixaban-Patienten (709 U; 621-891; p-Wert = 0,01).

3.4.5 Weitere Thrombozytenfunktionstests und Gerinnungsfaktormessungen

Die Konzentrationen des VWF, des aktivierten VWF, von Beta-Thromboglobulin, SP-Selektin und Thrombospondin unterschieden sich nicht signifikant zwischen beiden Gruppen zu allen vier Messzeitpunkten.

Die Faktor VII- sowie Faktor VIIa Messungen der beiden Gruppen unterschieden sich nicht signifikant während des ganzen Beobachtungszeitraumes. Dennoch zeigte sich bei der Messung des Faktors VIIa der Apixaban-Gruppe ein tendenziell stärkerer Abfall der Konzentration nach Heparin-gabe im Vergleich zur Rivaroxaban-Gruppe.

3.5 **Klinische Komplikationen (Tabelle 5)**

Keiner der Patienten aus beiden Gruppen verstarb, erlitt ein thromboembolisches Ereignis oder hatte eine schwerwiegende Blutungskomplikation. Die Komplikationen, die um die Ablationsprozedur auftraten, bestanden hauptsächlich aus leichten Blutungskomplikationen. Sie traten bei 4 der 90 Patienten auf. Die Prävalenz der leichten Blutungskomplikationen in der Rivaroxaban-Gruppe (4,1 %) und in der Apixaban-Gruppe (5,9 %) unterschied sich nicht signifikant (p-Wert = 0,78).

4 Diskussion

4.1 Einleitung

Nach bestem Wissen ist dies die erste Studie, für die systematisch ein breites Spektrum an Gerinnungstests während einer Radiofrequenz-Ablation durchgeführt wurde, um den antikoagulatorischen Effekt von Rivaroxaban und Apixaban in Kombination mit unfraktioniertem Heparin in der periprozeduralen Zeit einer Radiofrequenz-Ablation von Vorhofflimmern besser einordnen zu können.

4.2 Interpretation

Die wesentliche Erkenntnis dieser Studie ist, dass hochmolekulares Heparin bei Patienten unter Rivaroxaban-Einnahme eine signifikant geringere Anti-Faktor-Xa-Aktivität bewirkte, als bei Patienten, die mit Apixaban behandelt wurden. Obwohl dies ebenfalls durch ein signifikant verringertes ETP von Patienten mit Apixaban- und Heparin-Behandlung wiedergespiegelt wurde, wiesen dieselben Patienten eine erhöhte D-Dimer- und Prothrombinfragment-F1+F2-Konzentration auf. Dies wiederum ist ein Hinweis für eine höhere Aktivität der Gerinnungskaskade der Apixaban-Patienten unter Heparin-Therapie, im Vergleich zu den Patienten der Rivaroxaban-Gruppe unter Heparin-Therapie. Dieser gegenteilige Zustand, der in-vitro gemessen wurde, hatte keinen Einfluss auf klinische Komplikationen wie Blutungen oder thromboembolische Ereignisse.

Eines der größten Probleme bei der Beurteilung von antikoagulatorischen Effekten ergibt sich durch die sehr unterschiedlichen Sensitivitäten und Nachweisgrenzen der eingesetzten Reagenzien, Kalibratoren und verwendeten Kontrollen (Pollack 2015; Adcock und Gosselin 2015). Anti-Faktor-Xa-Bestimmungen sind im Vergleich zu globalen Gerinnungstests weniger störanfällig, da weniger unterschiedliche Faktoren einen Einfluss auf das Messergebnis haben. Im Gegensatz dazu fehlt es bei der Anti-Faktor-Xa-Bestimmung an Standardisierung. Beispielsweise werden Anti-Faktor-Xa-Aktivitäten für indirekte Xa-Inhibitoren, wie hochmolekulares Heparin, in IU/ml angegeben, wohingegen direkte Xa-Inhibitoren, zu denen auch die hier untersuchten Arzneien Rivaroxaban und Apixaban

gehören, in ng/ml angegeben. Ein direkter Zusammenhang zwischen diesen beiden Einheiten ist jedoch nicht vorhanden. In dieser Studie wurden die Anti-Faktor-Xa-Aktivitäten chromogen erfasst und je nach vorbestehender Therapie des Patienten mit Kalibrationsflüssigkeiten für die Aktivität von Rivaroxaban oder Apixaban verglichen. Fraglich ist nun also, ob die Anti-Faktor-Xa-Aktivität von hochmolekularem Heparin bei Patienten mit Rivaroxaban-Einnahme fälschlicherweise wegen eines Artefaktes, bedingt durch die Kalibrationsflüssigkeit, unterschätzt wurde. Unabhängig davon, welcher Faktor-Xa-Inhibitor benutzt wird und somit dann auch unabhängig davon, ob ein Kalibrator für indirekte oder direkte Faktor-Xa-Inhibitoren zum Einsatz kommt, wird die Anti-Faktor-Xa-Aktivität chromogen erfasst (Adcock und Gosselin 2015). Goesslin et al. konnte sogar einen linearen Zusammenhang zwischen Anti-Xa-Messungen, die auf Heparin kalibriert waren, und Anti-Xa-Konzentrationen, bedingt durch DOACs, aufzeigen (Gosselin und Adcock 2016). Die Wirkung eines indirekten Faktor-Xa-Inhibitors mit einem auf direkte Xa-Inhibitoren kalibrierten Tests zu quantifizieren, scheint zwar nicht ideal, dennoch sollte dieser Ansatz das Potential haben, die Anwesenheit von hochmolekularem Heparin zu detektieren. Unter der Annahme, dass die Sensitivität des Tests auf hochmolekulares Heparin durch die Kalibrierung auf Rivaroxaban stark eingeschränkt sei, wäre in der vorliegenden Studie 60 Minuten nach Heparingabe (ein Zeitpunkt zu dem die aPTT immer noch die Anwesenheit von hochmolekularem Heparin attestierte) zumindest eine leichte Erhöhung der Anti-Xa-Aktivität gegenüber der Messung vor Heparingabe zu erwarten gewesen. Daher stellt sich ein einfacher Kalibrationsfehler als eher unwahrscheinlich dar.

Wie bereits erwähnt, unterscheiden sich hochmolekulares Heparin und Rivaroxaban/Apixaban durch ihren Wirkungsort. Hochmolekulares Heparin inhibiert lediglich freie Proteasen der Gerinnungskaskade und inhibiert im Gegensatz zu Apixaban/Rivaroxaban auch Faktor IIa (Thrombin), Faktor IXa, Faktor XIa, Faktor XIIa und ist zudem noch von ATIII abhängig. Diese ATIII Abhängigkeit kann, zusammen mit der hohen Plasmabindungs-Affinität von hochmolekularem Heparin, Faktor-Xa-Tests beeinflussen. Im Gegensatz zu anderen Studien wurden in dieser die kommerziell erhältlichen Anti-Xa-Tests nicht zusätzlich mit ATIII oder Dextransulfat versetzt. Somit war es möglich, den unverfälschten biologischen Effekt von hochmolekularem Heparin in vivo zu erfassen. Dadurch waren die Messungen jedoch auch von dem endogen vorhandenen ATIII und

den Proteinkonzentrationen abhängig. Unter der Annahme, dass vergleichbare ATIII- und Protein-Plasmakonzentrationen in der Rivaroxaban- und Apixaban-Gruppe vorhanden waren (Daten wurden nicht erfasst), kann eine Unterschätzung der FXa-Aktivität aufgrund eines Mangels an ATIII oder vermehrter Plasmabindung von hochmolekularem Heparin bei Patienten mit Rivaroxaban-Einnahme mit hoher Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden.

Es bleibt die Frage, ob Rivaroxaban die Anti-Xa-Aktivität von hochmolekularem Heparin beeinflusst. Takemoto et al. konnten zeigen, dass eine Nichtübereinstimmung zwischen der aPTT und der Anti-Xa-Aktivität häufig bei Patienten unter Therapie mit hochmolekularem Heparin vorkommt und dass Änderungen der FII- und FVIII-Aktivitäten mit dieser fehlenden Übereinstimmung zusammenhängen (Takemoto et al. 2013).

In dieser Studie zeigten Patienten der Rivaroxaban-Gruppe vor Behandlungsbeginn eine Verlängerung der aPTT und TPZ im Vergleich zu Patienten der Apixaban-Gruppe. In vergangenen Studien konnte gezeigt werden, dass Apixaban einen kaum nachweisbaren Effekt auf die aPTT hat und nur in geringem Maße die TPZ beeinflusst, Rivaroxaban hingegen in beiden Tests eine Verlängerung der Testzeit hervorruft (Tripodi et al. 2011; Douxfils et al. 2012; Salmela et al. 2012; Hillarp et al. 2014; Steppich et al. 2017). Die aPTT-Messungen unterschieden sich nach Heparin-gabe nicht signifikant zwischen der Apixaban- und Rivaroxaban-Gruppe. Ein Vergleich ist jedoch schwierig, da alle Patienten aus beiden Gruppen ohne Ausnahme zu den Messzeitpunkten 10 Minuten und 60 Minuten nach Heparin-gabe die maximale Testlänge von 150 Sekunden überschritten.

Diese Ergebnisse stimmen weitestgehend mit den Resultaten der Thrombelastogramme überein. Ähnlich wie die aPTT wurde auch die Clotting Time sowie die Clot Formation Time des INTEM durch Rivaroxaban verlängert, wohingegen der Einfluss von Apixaban geringer war. Da in dem INTEM-Test als auch in der aPTT partielles Thromboplastin als Reagenz zur Aktivierung von Faktor XII verwendet wird, ist diese Beobachtung stimmig. Bei allen späteren Messzeitpunkten wurde dieser Unterschied mit hoher Wahrscheinlichkeit durch die Heparin-gabe überblendet. Auch die anderen beiden Parameter der INTEM-Messung passen zu diesem Bild. Der unter alleinigem Rivaroxaban-Einfluss gebildete

Thrombus hatte nicht dieselbe Festigkeit und wurde gemäß des Alpha-Winkels auch nicht so schnell stabil wie der Thrombus, der unter alleinigem Apixaban-Einfluss entstand.

Bei der EXTEM-Messung wird, ähnlich wie bei der TPZ, Thromboplastin als Reagenz sowie Kalziumionen zugegeben. Somit erscheint es stimmig, dass vor Heparinzugabe die Clotting Time unter Rivaroxaban-Einfluss länger ist und sich Apixaban auf diese nur weniger auswirkt. Bei den anderen Parametern der EXTEM-Messung vor Heparinzugabe zeigten sich lediglich Trends, welche jedoch auch analog zur TPZ-Messung einen stärkeren Einfluss von Rivaroxaban auf Clot Formation Time, Clot Firmness und Alpha-Winkel der EXTEM attestieren.

Die ACT-Messungen, die für diese Studie vorgenommen wurden, reagierten ebenfalls mit einer Verlängerung auf die Therapie mit Rivaroxaban im Vergleich zu Apixaban. Obwohl die Heparin Dosierung während des Eingriffs ACT-gesteuert erfolgte, wurde Heparin in nicht signifikant unterschiedlichen Mengen an beide Gruppen verabreicht. Auch nachdem die Heparinmenge mit der Prozedurdauer und dem Körpergewicht verrechnet wurde, ergab sich kein signifikanter Unterschied. Die Bedeutung, welche die unterschiedlichen Sensitivität der ACT Messung auf die beiden Arzneien auf die klinische Anwendung haben, ist bisher nicht eindeutig. Ob Patienten mit Apixaban-Einnahme mehr Heparin erhalten sollten, oder ob die Ziel ACT während des Eingriffs bei Apixaban Patienten angepasst werden sollte muss sich erst noch zeigen.

Warum vergleichbare Mengen an Heparin eine deutlich geringere Anti-Faktor-Xa-Aktivität in Rivaroxaban-Patienten im Vergleich zu Apixaban-Patienten hervorruft, lässt Freiraum für Spekulationen. Möglicherweise interferiert Rivaroxaban mit der Bindungsstelle des ATIII/Heparin-Komplexes für Faktor Xa oder eine Konformationsänderung des ATIII-Moleküls wird durch Rivaroxaban induziert. Wie bereits in Abschnitt 1.5.1.2 beschrieben ist im Gegensatz zu einer Hemmung von Thrombin durch den ATIII/Heparin-Komplex für die Hemmung von Faktor Xa kein direkter Kontakt des Heparins mit Faktor Xa nötig Hirsh et al. 2007. Hierbei sollte erwähnt werden, dass laut in vitro Untersuchungen eine geringere Rivaroxaban Konzentration nötig ist, um 50 % des freien Faktors Xa (IC 50 % 0.7 nM) zu inhibieren, im Vergleich zu Faktor Xa, der an Prothrombinasen gebunden ist (IC 50 % 2,1 nM) (Perzborn et al. 2005). Somit könnte Rivaroxaban in vivo

den freien Faktor Xa mit einer größeren Affinität und damit Effektivität blockieren als gebundenen Faktor Xa, wodurch auch die Reaktion von Heparin mit freiem Faktor Xa beeinflusst werden könnte.

Anders als die Anti-Faktor-Xa-Messung ist die ETP-Messung als globaler Gerinnungstest nicht nur von einzelnen Faktoren abhängig, sondern erfasst das Zusammenspiel aller Faktoren. In dieser Studie zeigte die ETP-Messung 360 Minuten nach Heparin-gabe ein ähnliches Bild wie die Anti-Faktor-Xa-Messung. Patienten der Apixaban-Gruppe hatten signifikant geringere ETPs als Patienten der Rivaroxaban-Gruppe, was ein Hinweis auf eine stärker eingeschränkte Gerinnung ist.

Wie bereits in 1.5 erwähnt, stellt eine RFA einen stark gerinnungsfördernden Zustand dar, von dem laut Anti-Faktor-Xa- und ETP-Messungen Patienten der Apixaban-Gruppe besser hätten geschützt sein sollen. Dennoch waren bei diesen Patienten höhere D-Dimer und Prothrombinfragment-F1+F2-Konzentrationen nachweisbar, welche für eine andauernde Thrombin-Bildung sowie eine Fibrinpolymer-Spaltung in vivo spräche. Trotz dieses gegensätzlichen in vitro gemessenen Gerinnungsstatus konnten keine klinischen Auswirkungen auf das Vorkommen von Blutungen oder thromboembolischen Ereignissen bei den Patienten festgestellt werden. Trotz der kleinen Patientengruppen in dieser Studie ist diese Beobachtung stimmig mit anderen Untersuchungen (Dillier et al. 2014; Kaess et al. 2015; Snipelisky et al. 2012; Snipelisky et al. 2014).

Abschließend lässt sich sagen, dass sich unterschiedliche Reaktionen des Gerinnungssystems auf Rivaroxaban und Apixaban in Verbindung mit Heparin in der periprozeduralen Phase finden ließen. Besonders die Messung der Anti-Xa-Aktivität ist nur von begrenztem Nutzen für die Überwachung des Heparineinflusses bei Patienten mit Rivaroxaban-Einnahme und könnte den Gerinnungsstatus in dieser bestimmten Situation nicht richtig erfassen. Dies muss bei der Durchführung von RFA berücksichtigt werden, um irreführende Einschätzungen und falsches Gerinnungsmanagement zu vermeiden.

4.3 Kritische Betrachtung

Einschränkungen dieser Studie sind die alleinige beobachtende Erhebung der Effekte auf die Antikoagulation im Gegensatz zu einer randomisierten Vergabe der Medikation mit zusätzlicher Verblindung. Des Weiteren ist an dieser Stelle die mit nur 17 Patienten geringe Anzahl an Messergebnissen in der Apixaban-Gruppe zu erwähnen sowie eine zu geringe Anzahl an Patienten, um eine aussagekräftiges Ergebnis zu den klinischen Endpunkten der Studie zu erhalten. Außerdem bestanden die bereits erwähnten Unterschiede in der Begleitmedikation und in den Erkrankungen zwischen den beiden Untersuchungsgruppen. Da sich die Talspiegel von den maximalen Plasmakonzentrationen von DOACs um den Faktor 10 bis 20 unterscheiden können, sollte auf Unterschiede von Halbwertszeiten, Dosierungen und Wartezeiten vor den Ablationen geachtet werden (Sairaku et al. 2013). Das mittlere Zeitintervall zwischen letzter Medikationseinnahme und erster Blutentnahme im EPU Labor zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen der Rivaroxaban und der Apixaban Gruppe (161 ± 125 min vs. 157 ± 113 min; p-Wert = 0,93). Zudem wurde in dieser Studie eine modifizierte, durchgehende Medikamentengabe angewandt, bei der die Patienten am Vorabend und Morgen der Ablation die halbe therapeutische Dosis des jeweiligen Medikaments erhielten. In Anbetracht der vergleichbaren Halbwertszeiten und den Zeiten bis zur maximalen Konzentration von Apixaban und Rivaroxaban ist zu vermuten, dass Fluktuationen in den Medikamentenspiegeln bestmöglich verhindert wurden.

5 Zusammenfassung

Immer mehr Menschen mit Vorhofflimmern werden mit den direkten, oralen Antikoagulanzen Rivaroxaban und Apixaban behandelt. Therapeutisch kommt bei Vorhofflimmern die kathetergesteuerte Radiofrequenzablation zum Einsatz, hierfür wird zusätzlich unfraktioniertes Heparin verabreicht, um thromboembolische Ereignisse zu verhindern. Ist das Gerinnungssystem durch eine übermäßige Gabe von Heparin zu stark beeinträchtigt, erhöht sich das Risiko von Blutungskomplikationen. Den Gerinnungsstatus während einer Radiofrequenzablation, unter Therapie mit Heparin in Kombination mit Apixaban oder Rivaroxaban, mit der Activated Clotting Time korrekt zu erfassen, gestaltet sich schwierig. Um die antikoagulatorische Wirkung der direkten Faktor-Xa-Inhibitoren Rivaroxaban und Apixaban besser einschätzen zu können und somit eine bessere Überwachung der intraprozeduralen UFH Gabe zu ermöglichen, wurde bei 90 Patienten während der Radiofrequenzablation anhand diverser Gerinnungstests, wie beispielsweise arzneispezifischer Anti-Faktor-Xa-Aktivitätsmessungen, überprüft, inwiefern sich die beiden Arzneien unterschiedlich auf das Gerinnungssystem auswirken. Die Studienteilnehmer erhielten in den vier Wochen vor dem Eingriff entweder 20 mg Rivaroxaban einmal täglich oder 5 mg Apixaban zweimal täglich. Während der Ablation wurde unfraktioniertes Heparin intravenös verabreicht. Noch vor der ersten Heparin-gabe wurde den Patienten die erste Blutprobe abgenommen, drei weitere Abnahmen erfolgten 10, 60 sowie 360 Minuten im Anschluss an die Heparin-gabe. Hochmolekulares Heparin bedingte bei Patienten unter Rivaroxaban-Einnahme eine signifikant geringere Anti-Faktor-Xa-Aktivität als bei Patienten, die mit Apixaban behandelt wurden. Obwohl dies ebenfalls durch ein signifikant verringertes Endogenes Thrombin Potenzial von Patienten mit Apixaban- und Heparin-Behandlung wiedergespiegelt wurde, wiesen dieselben Patienten eine erhöhte D-Dimer und Prothrombinfragment-F1+F2-Konzentration auf. Dies wiederum ist ein Hinweis für eine höhere Aktivität der Gerinnungskaskade der Apixaban-Patienten unter Heparin-Therapie im Vergleich zu den Patienten der Rivaroxaban-Gruppe unter Heparin-Therapie. Dieser in-vitro gemessene gegenteilige Zustand hatte keinen Einfluss auf klinische Komplikationen, wie Blutungen oder thromboembolische Ereignisse. Das unterschiedliche Ansprechen der Gerinnungstests auf die beiden Arzneien zeigt umso mehr,

dass äußerste Vorsicht bei der Überwachung der periprozeduralen Gerinnungshemmung geboten ist, um eine misslungene Einstellung der Antikoagulation zu vermeiden.

6 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1-1: Chemische Struktur von Rivaroxaban (gemäß Roehrig et al. 2005)	15
Abbildung 1-2: Metabolisierung von Rivaroxaban in Menschen, Ratten und Hunden (gemäß Weinz et al. 2009)	16
Abbildung 1-3: Hydrolytische Spaltung von Rivaroxaban (gemäß Lang et al. 2009) ...	17
Abbildung 1-4: Chemische Struktur von Apixaban (gemäß Zhang et al. 2009).....	19
Abbildung 1-5: Biotransformationswege von Apixaban im Menschen. Gemessen wurde die Menge der einzelnen Metabolite 48 Stunden nach oraler Einnahme von 20 mg Apixaban, welches mit einem radioaktiv markierten Kohlenstoff versehen wurde. Mengenangaben in Prozent zur Ausgangsdosis. (gemäß Wong et al. 2011).....	20
Abbildung 2-1: Thrombelastogramm Diagramm (gemäß Alves Coelho, Maria Caroline et al. 2014).....	32
Abbildung 3-1: Anti-Faktor-Xa Konzentration in ng/ml zu den vier Messzeitpunkten.	42
Abbildung 3-2: TPZ in % zu den vier Messzeitpunkten.....	43

7 Literaturverzeichnis

Adcock D.M.; Gosselin R.: Direct Oral Anticoagulants (DOACs) in the Laboratory: 2015 Review. In: *Thrombosis research* (2015) 1, S. 7–12.

Allen D.H.; Tracy P.B.: Human coagulation factor V is activated to the functional cofactor by elastase and cathepsin G expressed at the monocyte surface. In: *The Journal of biological chemistry* (1995) 3, S. 1408–1415.

Alves Coelho, Maria Caroline; Vieira Neto L.; Kasuki L.; Wildemberg L.E.; Dos Santos, Camila Vicente; Castro G.; Gouvea G.; Veloso, Orlando Carlos Gloria; Gadelha T.; Gadelha M.R.: Rotation thromboelastometry and the hypercoagulable state in Cushing's syndrome. In: *Clin Endocrinol (Oxf)* (2014) 5, S. 657–664.

Arbabi Ghahroudi M.; Desmyter A.; Wyns L.; Hamers R.; Muyldermans S.: Selection and identification of single domain antibody fragments from camel heavy-chain antibodies. In: *FEBS Lett* (1997) 3, S. 521–526.

Benjamin E.J.; Levy D.; Vaziri S.M.; D'Agostino R.B.; Belanger A.J.; Wolf P.A.: Independent risk factors for atrial fibrillation in a population-based cohort. The Framingham Heart Study. In: *JAMA* (1994) 11, S. 840–844.

Benjamin E.J.; Wolf P.A.; D'Agostino R.B.; Silbershatz H.; Kannel W.B.; Levy D.: Impact of atrial fibrillation on the risk of death: the Framingham Heart Study. In: *Circulation* (1998) 10, S. 946–952.

Bjornsson T.D.; Wolfram K.M.; Kitchell B.B.: Heparin kinetics determined by three assay methods. In: *Clinical pharmacology and therapeutics* (1982) 1, S. 104–113.

Bombeli T.: Updates in perioperative coagulation. Physiology and management of thromboembolism and haemorrhage. In: *British Journal of Anaesthesia* (2004) 2, S. 275–287.

Brugada R.; Tapscott T.; Czernuszewicz G.Z.; Marian A.J.; Iglesias A.; Mont L.; Brugada J.; Girona J.; Domingo A.; Bachinski L.L.; Roberts R.: Identification of a genetic locus for familial atrial fibrillation. In: *N Engl J Med* (1997) 13, S. 905–911.

Calkins H.; Brugada J.; Packer D.L.; Cappato R.; Chen S.A.; Crijns H.J.; Damiano R.J., JR; Davies D.W.; Haines D.E.; Haissaguerre M.; Iesaka Y.; Jackman W.; Jais P.; Kottkamp H.; Kuck K.H.; Lindsay B.D.; Marchlinski F.E.; McCarthy P.M.; Mont J.L.; Morady F.; Nademanee K.; Natale A.; Pappone C.; Prystowsky E.; Raviele A.; Ruskin J.N.; Shemin R.J.: HRS/EHRA/ECAS expert Consensus Statement on catheter and surgical ablation of atrial fibrillation: recommendations for personnel, policy, procedures and follow-up. A report of the Heart Rhythm Society (HRS) Task Force on catheter and surgical ablation of atrial fibrillation. In: *Heart rhythm : the official journal of the Heart Rhythm Society* (2007) 6, S. 816–861.

Calkins H.; Kuck K.H.; Cappato R.; Brugada J.; Camm A.J.; Chen S.-A.; Crijns, Harry J G; Damiano, Ralph J Jr; Davies D.W.; DiMarco J.; Edgerton J.; Ellenbogen K.; Ezekowitz M.D.; Haines D.E.; Haissaguerre M.; Hindricks G.; Iesaka Y.; Jackman W.; Jalife J.; Jais P.; Kalman J.; Keane D.; Kim Y.-H.; Kirchhof P.; Klein G.; Kottkamp H.; Kumagai K.; Lindsay B.D.; Mansour M.; Marchlinski F.E.; McCarthy P.M.; Mont J.L.; Morady F.; Nademanee K.; Nakagawa H.; Natale A.; Nattel S.; Packer D.L.; Pappone C.; Prystowsky E.; Raviele A.; Reddy V.; Ruskin J.N.; Shemin R.J.; Tsao H.-M.; Wilber D.: 2012 HRS/EHRA/ECAS Expert Consensus Statement on Catheter and Surgical Ablation of Atrial Fibrillation: recommendations for patient selection, procedural techniques, patient management and follow-up, definitions, endpoints, and research trial design. In: *Europace* (2012) 4, S. 528–606.

Camm A.J.; Kirchhof P.; Lip G.Y.H.; Schotten U.; Savelieva I.; Ernst S.; van Gelder I.C.; Al-Attar N.; Hindricks G.; Prendergast B.; Heidbuchel H.; Alfieri O.; Angelini A.; Atar D.; Colonna P.; Caterina R. de; Sutter J. de; Goette A.; Gorenek B.; Heldal M.; Hohloser S.H.; Kolh P.; Le Heuzey J.-Y.; Ponikowski P.; Rutten F.H.: Guidelines for the management of atrial fibrillation: the Task Force for the Management of Atrial Fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC). In: *Europace* (2010a) 10, S. 1360–1420.

Camm A.J.; Kirchhof P.; Lip, Gregory Y H; Schotten U.; Savelieva I.; Ernst S.; Van Gelder, Isabelle C; Al-Attar N.; Hindricks G.; Prendergast B.; Heidbuchel H.; Alfieri O.; Angelini A.; Atar D.; Colonna P.; Caterina R. de; Sutter J. de; Goette A.; Gorenek B.;

Heldal M.; Hohloser S.H.; Kolh P.; Le Heuzey J.-Y.; Ponikowski P.; Rutten F.H.: Guidelines for the management of atrial fibrillation: the Task Force for the Management of Atrial Fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC). In: *Eur Heart J* (2010b) 19, S. 2369–2429.

Camm A.J.; Lip G.Y.H.; Caterina R. de; Savelieva I.; Atar D.; Hohloser S.H.; Hindricks G.; Kirchhof P.: 2012 focused update of the ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation: an update of the 2010 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation. Developed with the special contribution of the European Heart Rhythm Association. In: *Eur Heart J* (2012) 21, S. 2719–2747.

Casu B.; Oreste P.; Torri G.; Zopetti G.; Choay J.; Lormeau J.C.; Petitou M.; Sinäy P.: The structure of heparin oligosaccharide fragments with high anti-(factor Xa) activity containing the minimal antithrombin III-binding sequence. Chemical and ¹³C nuclear-magnetic-resonance studies. In: *Biochemical Journal* (1981) 3, S. 599–609.

Colilla S.; Crow A.; Petkun W.; Singer D.E.; Simon T.; Liu X.: Estimates of current and future incidence and prevalence of atrial fibrillation in the U.S. adult population. In: *Am J Cardiol* (2013) 8, S. 1142–1147.

Darge A.; Reynolds; Germano J.J.: Advances in atrial fibrillation ablation. In: *The Journal of invasive cardiology* (2009) 5, S. 247–254.

Dawes J.; Papper D.S.: Catabolism of low-dose heparin in man. In: *Thrombosis research* (1979) 6, S. 845–860.

Diaz-Ricart M.; Estebanell E.; Lozano M.; Aznar-Salatti J.; White J.G.; Ordinas A.; Escolar G.: Thrombin facilitates primary platelet adhesion onto vascular surfaces in the absence of plasma adhesive proteins: studies under flow conditions. In: *Haematologica* (2000) 3, S. 280–288.

Dillier R.; Ammar S.; Hessling G.; Kaess B.; Pavaci H.; Buiatti A.; Semmler V.; Kathan S.; Hofmann M.; Lennerz C.; Kolb C.; Reents T.; Deisenhofer I.: Safety of continuous periprocedural rivaroxaban for patients undergoing left atrial catheter ablation procedures. In: *Circ Arrhythm Electrophysiol* (2014) 4, S. 576–582.

Douxflis J.; Mullier F.; Loosen C.; Chatelain C.; Chatelain B.; Dogné J.-M.: Assessment of the impact of rivaroxaban on coagulation assays: laboratory recommendations for the monitoring of rivaroxaban and review of the literature. In: *Thromb. Res.* (2012) 6, S. 956–966.

Dublin S.; French B.; Glazer N.L.; Wiggins K.L.; Lumley T.; Psaty B.M.; Smith N.L.; Heckbert S.R.: Risk of new-onset atrial fibrillation in relation to body mass index. In: *Arch Intern Med* (2006) 21, S. 2322–2328.

El Khattabi M.; Adams H.; Heezius E.; Hermans P.; Detmers F.; Maassen B.; van der Ley, Peter; Tommassen J.; Verrips T.; Stam J.: Llama single-chain antibody that blocks lipopolysaccharide binding and signaling: prospects for therapeutic applications. In: *Clin Vaccine Immunol* (2006) 10, S. 1079–1086.

Exaire J.E.; Butman S.M.; Ebrahimi R.; Kleiman N.S.; Harrington R.A.; Schweiger M.J.; Bittl J.A.; Wolski K.; Topol E.J.; Lincoff A.M.: Provisional glycoprotein IIb/IIIa blockade in a randomized investigation of bivalirudin versus heparin plus planned glycoprotein IIb/IIIa inhibition during percutaneous coronary intervention: predictors and outcome in the Randomized Evaluation in Percutaneous coronary intervention Linking Angiomax to Reduced Clinical Events (REPLACE)-2 trial. In: *Am Heart J* (2006) 1, S. 157–163.

Friberg L.; Hammar N.; Rosenqvist M.: Stroke in paroxysmal atrial fibrillation: report from the Stockholm Cohort of Atrial Fibrillation. In: *Eur Heart J* (2010) 8, S. 967–975.

Frost C.; Wang J.; Nepal S.; Schuster A.; Barrett Y.C.; Mosqueda-Garcia R.; Reeves R.A.; LaCreta F.: Apixaban, an oral, direct factor Xa inhibitor: single dose safety, pharmacokinetics, pharmacodynamics and food effect in healthy subjects. In: *Br J Clin Pharmacol* (2013) 2, S. 476–487.

Gage B.F.; Waterman A.D.; Shannon W.; Boechler M.; Rich M.W.; Radford M.J.: Validation of Clinical Classification Schemes for Predicting Stroke. In: *JAMA* (2001) 22, S. 2864.

Garcia D.A.; Baglin T.P.; Weitz J.I.; Samama M.M.: Parenteral Anticoagulants: Anti-thrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. In: *Chest* (2012) 2 Suppl, S. 43.

Gnoth M.J.; Buetchorn U.; Muenster U.; Schwarz T.; Sandmann S.: In vitro and in vivo P-glycoprotein transport characteristics of rivaroxaban. In: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* (2011) 1, S. 372–380.

Go A.S.; Hylek E.M.; Phillips K.A.; Chang Y.; Henault L.E.; Selby J.V.; Singer D.E.: Prevalence of diagnosed atrial fibrillation in adults: national implications for rhythm management and stroke prevention: the AnTicoagulation and Risk Factors in Atrial Fibrillation (ATRIA) Study. In: *JAMA* (2001) 18, S. 2370–2375.

Gosselin R.; Adcock D.M.: The Laboratory's 2015 Perspective on DOAC Testing. In: *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* (2016).

Guyer K.E.: The present state of aspirin and clopidogrel resistance. In: *Hamostaseologie* (2009) 3, S. 285–290.

Healey J.S.; Connolly S.J.: Atrial fibrillation: hypertension as a causative agent, risk factor for complications, and potential therapeutic target. In: *Am J Cardiol* (2003) 10A, S. 9–14.

Heeringa J.; van der Kuip, Deirdre A M; Hofman A.; Kors J.A.; van Herpen G.; Stricker, Bruno H Ch; Stijnen T.; Lip, Gregory Y H; Wittteman, Jacqueline C M: Prevalence, incidence and lifetime risk of atrial fibrillation: the Rotterdam study. In: *Eur Heart J* (2006) 8, S. 949–953.

Hemker H.C.; Wielders S.; Kessels H.; Beguin S.: Continuous registration of thrombin generation in plasma, its use for the determination of the thrombin potential. In: *Thromb Haemost* (1993) 4, S. 617–624.

Hillarp A.; Gustafsson K.M.; Faxälv L.; Strandberg K.; Baghaei F.; Fagerberg Blixter I.; Berndtsson M.; Lindahl T.L.: Effects of the oral, direct factor Xa inhibitor apixaban on

routine coagulation assays and anti-FXa assays. In: *J. Thromb. Haemost.* (2014) 9, S. 1545–1553.

Hirsh J.; Anand S.S.; Halperin J.L.; Fuster V.: Mechanism of Action and Pharmacology of Unfractionated Heparin. In: *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* (2001) 7, S. 1094–1096.

Hirsh J.; O'Donnell M.; Eikelboom J.W.: Beyond Unfractionated Heparin and Warfarin. Current and Future Advances. In: *Circulation* (2007) 5, S. 552–560.

Hoffman M.; Monroe D.3.: A cell-based model of hemostasis. In: *Thrombosis and haemostasis* (2001) 6, S. 958–965.

Hoogenboom H.R.; de Bruine, A P; Hufton S.E.; Hoet R.M.; Arends J.W.; Roovers R.C.: Antibody phage display technology and its applications. In: *Immunotechnology* (1998) 1, S. 1–20.

Hulstein, Janine J J; de Groot, Philip G; Silence K.; Veyradier A.; Fijnheer R.; Lenting P.J.: A novel nanobody that detects the gain-of-function phenotype of von Willebrand factor in ADAMTS13 deficiency and von Willebrand disease type 2B. In: *Blood* (2005) 9, S. 3035–3042.

Hultberg A.; Temperton N.J.; Rosseels V.; Koenders M.; Gonzalez-Pajuelo M.; Schepens B.; Ibanez L.I.; Vanlandschoot P.; Schillemans J.; Saunders M.; Weiss R.A.; Saelens X.; Melero J.A.; Verrips C.T.; van Gucht S.; de Haard, Hans J: Llama-derived single domain antibodies to build multivalent, superpotent and broadened neutralizing anti-viral molecules. In: *PLoS One* (2011) 4, S. e17665.

Hultin M.B.: Modulation of thrombin-mediated activation of factor VIII:C by calcium ions, phospholipid, and platelets. In: *Blood* (1985) 1, S. 53–58.

Hung D.T.; Vu T.K.; Wheaton V.I.; Ishii K.; Coughlin, SR: Cloned platelet thrombin receptor is necessary for thrombin-induced platelet activation. In: *The Journal of clinical investigation* (1992) 4, S. 1350–1353.

Huxley R.R.; Fillion K.B.; Konety S.; Alonso A.: Meta-analysis of cohort and case-control studies of type 2 diabetes mellitus and risk of atrial fibrillation. In: *Am J Cardiol* (2011) 1, S. 56–62.

Hylek E.M.; Go A.S.; Chang Y.; Jensvold N.G.; Henault L.E.; Selby J.V.; Singer D.E.: Effect of intensity of oral anticoagulation on stroke severity and mortality in atrial fibrillation. In: *N Engl J Med* (2003) 11, S. 1019–1026.

Hyseni A.; Kemperman H.; de Lange, D W; de Groot, P G; Linssen M.; Kesecioglu J.; Lisman T.; Roest M.: Increased mortality in systemic inflammatory response syndrome patients with high levels of coagulation factor VIIa. In: *J Thromb Haemost* (2013) 12, S. 2111–2117.

Hyseni A.; Kemperman H.; de Lange, Dylan W; Kesecioglu J.; de Groot, Philip G; Roest M.: Active von Willebrand factor predicts 28-day mortality in patients with systemic inflammatory response syndrome. In: *Blood* (2014) 14, S. 2153–2156.

Israel C.W.: Jahresbericht 2012 der AG1. Rhythmologie der DGK 2013. In: *Herzschrittmacherther Elektrophysiol* (2013) 1, S. 58–59.

Jorgensen H.S.; Nakayama H.; Reith J.; Raaschou H.O.; Olsen T.S.: Acute stroke with atrial fibrillation. The Copenhagen Stroke Study. In: *Stroke* (1996) 10, S. 1765–1769.

Jurk K.; Kehrel B.E.: Die zentrale Rolle der Thrombozyten im neuen Verständnis der Hämostase. In: *Hämostaseologie* (2005) 1, S. 39–49.

Kaess B.M.; Ammar S.; Reents T.; Dillier R.; Lennerz C.; Semmler V.; Grebmer C.; Bourier F.; Buiatti A.; Kolb C.; Deisenhofer I.; Hessling G.: Comparison of safety of left atrial catheter ablation procedures for atrial arrhythmias under continuous anticoagulation with apixaban versus phenprocoumon. In: *The American journal of cardiology* (2015) 1, S. 47–51.

Kannel W.B.; Wolf P.A.; Benjamin E.J.; Levy D.: Prevalence, incidence, prognosis, and predisposing conditions for atrial fibrillation: population-based estimates. In: *Am J Cardiol* (1998) 8A, S. 2–9.

Kinlough-Rathbone R.L.; Perry D.W.; Guccione M.A.; Rand M.L.; Packham M.A.: Degranulation of human platelets by the thrombin receptor peptide SFLLRN: comparison with degranulation by thrombin. In: *Thromb Haemost* (1993) 6, S. 1019–1023.

Kirchhof P.; Goette A.; Gulba D.; Hindricks G.; Hohnloser S.H.: Kommentar zu den Leitlinien der ESC zum Vorhofflimmern. In: *Kardiologie* (2012) 1, S. 12–27.

Knecht S.; Oelschläger C.; Duning T.; Lohmann H.; Albers J.; Stehling C.; Heindel W.; Breithardt G.; Berger K.; Ringelstein E.B.; Kirchhof P.; Wersching H.: Atrial fibrillation in stroke-free patients is associated with memory impairment and hippocampal atrophy. In: *Eur Heart J* (2008) 17, S. 2125–2132.

Kubitza D.; Becka M.; Wensing G.; Voith B.; Zuehlsdorf M.: Safety, pharmacodynamics, and pharmacokinetics of BAY 59-7939--an oral, direct Factor Xa inhibitor--after multiple dosing in healthy male subjects. In: *Eur J Clin Pharmacol* (2005) 12, S. 873–880.

Kubitza D.; Haas S.: Novel factor Xa inhibitors for prevention and treatment of thromboembolic diseases. In: *Expert Opin Investig Drugs* (2006) 8, S. 843–855.

Lam L.H.; Silbert J.E.; Rosenberg R.D.: The separation of active and inactive forms of heparin. In: *Biochemical and biophysical research communications* (1976) 2, S. 570–577.

Lane D.A.; Denton J.; Flynn A.M.; Thunberg L.; Lindahl U.: Anticoagulant activities of heparin oligosaccharides and their neutralization by platelet factor 4. In: *The Biochemical journal* (1984) 3, S. 725–732.

Lang D.; Freudenberger C.; Weinz C.: In vitro metabolism of rivaroxaban, an oral, direct factor Xa inhibitor, in liver microsomes and hepatocytes of rats, dogs, and humans. In: *Drug Metab Dispos* (2009) 5, S. 1046–1055.

Lasne D.; Jude B.; Susen S.: From normal to pathological hemostasis. In: *Canadian journal of anaesthesia = Journal canadien d'anesthésie* (2006) 6 Suppl, S. 11.

Lin H.J.; Wolf P.A.; Kelly-Hayes M.; Belser A.S.; Kase C.S.; Benjamin E.J.; D'Agostino R.B.: Stroke severity in atrial fibrillation - The Framingham study. In: *STROKE* (1996) 10, S. 1760–1764.

Lindahl U.; Thunberg L.; Backstrom G.; Riesenfeld J.; Nordling K.; Bjork I.: Extension and structural variability of the antithrombin-binding sequence in heparin. In: *The Journal of biological chemistry* (1984) 20, S. 12368–12376.

Lip G.Y.H.; Nieuwlaat R.; Pisters R.; Lane D.A.; Crijns H.J.G.M.: Refining clinical risk stratification for predicting stroke and thromboembolism in atrial fibrillation using a novel risk factor-based approach: the euro heart survey on atrial fibrillation. In: *Chest* (2010) 2, S. 263–272.

Lloyd-Jones D.M.; Wang T.J.; Leip E.P.; Larson M.G.; Levy D.; Vasan R.S.; D'Agostino R.B.; Massaro J.M.; Beiser A.; Wolf P.A.; Benjamin E.J.: Lifetime risk for development of atrial fibrillation: the Framingham Heart Study. In: *Circulation* (2004) 9, S. 1042–1046.

Marini C.; Santis F. de; Sacco S.; Russo T.; Olivieri L.; Totaro R.; Carolei A.: Contribution of atrial fibrillation to incidence and outcome of ischemic stroke: results from a population-based study. In: *Stroke* (2005) 6, S. 1115–1119.

Maroo A.; Am Lincoff: Bivalirudin in PCI: an overview of the REPLACE-2 trial. In: *Seminars in thrombosis and hemostasis* (2004) 3, S. 329–336.

McLean J.: The Thromboplastic action of cephalin. In: *Am J Physiol* (1916) 41, S. 250–257.

Merlini P.A.; Bauer K.A.; Oltrona L.; Ardissino D.; Cattaneo M.; Belli C.; Mannucci P.M.; Rosenberg R.D.: Persistent activation of coagulation mechanism in unstable angina and myocardial infarction. In: *Circulation* (1994) 1, S. 61–68.

Miesbach W.; Schenk J.; Alesci S.; Lindhoff-Last E.: Comparison of the fibrinogen Clauss assay and the fibrinogen PT derived method in patients with dysfibrinogenemia. In: *Thromb. Res.* (2010) 6, S. 33.

Mitchell G.F.; Vasan R.S.; Keyes M.J.; Parise H.; Wang T.J.; Larson M.G.; D'Agostino, Ralph B Sr; Kannel W.B.; Levy D.; Benjamin E.J.: Pulse pressure and risk of new-onset atrial fibrillation. In: *JAMA* (2007) 7, S. 709–715.

Miyasaka Y.; Barnes M.E.; Gersh B.J.; Cha S.S.; Bailey K.R.; Abhayaratna W.P.; Seward J.B.; Tsang, Teresa S M: Secular trends in incidence of atrial fibrillation in Olmsted County, Minnesota, 1980 to 2000, and implications on the projections for future prevalence. In: *Circulation* (2006) 2, S. 119–125.

Monkovic D.D.; Tracy P.B.: Activation of human factor V by factor Xa and thrombin. In: *Biochemistry* (1990a) 5, S. 1118–1128.

Monkovic D.D.; Tracy P.B.: Functional characterization of human platelet-released factor V and its activation by factor Xa and thrombin. In: *The Journal of biological chemistry* (1990b) 28, S. 17132–17140.

Monroe D.M.; Hoffman M.; Roberts H.R.: Transmission of a procoagulant signal from tissue factor-bearing cell to platelets. In: *Blood coagulation & fibrinolysis : an international journal in haemostasis and thrombosis* (1996) 4, S. 459–464.

Nairooz R.; Ayoub K.; Sardar P.; Payne J.; Almomani A.; Pothineni N.V.; Shailesh F.; Aronow W.S.; Mukherjee D.: Uninterrupted New Oral Anticoagulants Compared With Uninterrupted Vitamin K Antagonists in Ablation of Atrial Fibrillation: A Meta-analysis. In: *The Canadian journal of cardiology* (2015).

Nichols G.A.; Reinier K.; Chugh S.S.: Independent contribution of diabetes to increased prevalence and incidence of atrial fibrillation. In: *Diabetes Care* (2009) 10, S. 1851–1856.

Ofori F.A.; Sie P.; Modi G.J.; Fernandez F.; Buchanan; Blajchman M.A.; Boneu B.; Hirsh J.: The inhibition of thrombin-dependent positive-feedback reactions is critical to the expression of the anticoagulant effect of heparin. In: *The Biochemical journal* (1987) 2, S. 579–588.

Oliver J.A.; Monroe D.M.; Roberts H.R.; Hoffman M.: Thrombin activates factor XI on activated platelets in the absence of factor XII. In: *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* (1999) 1, S. 170–177.

O'Neill M.D.; Jais P.; Hocini M.; Sacher F.; Klein G.J.; Clementy J.; Haissaguerre M.: Catheter ablation for atrial fibrillation. In: *Circulation* (2007) 13, S. 1515–1523.

Ostgren C.J.; Merlo J.; Rastam L.; Lindblad U.: Atrial fibrillation and its association with type 2 diabetes and hypertension in a Swedish community. In: *Diabetes Obes Metab* (2004) 5, S. 367–374.

Palta S.; Saroa R.; Palta A.: Overview of the coagulation system. In: *Indian Journal of Anaesthesia* (2014) 5, S. 515–523.

Patel M.R.; ROCKET AF Study Investigators: Rivaroxaban-Once daily, oral, direct factor Xa inhibition Compared with vitamin K antagonism for prevention of stroke and Embolism Trial in Atrial Fibrillation: Rationale and Design of the ROCKET AF study. In: *American Heart Journal* (2010) 3, S. 340.

Perzborn E.; Strassburger J.; Wilmen A.; Pohlmann J.; Roehrig S.; Schlemmer K.-H.; Straub A.: In vitro and in vivo studies of the novel antithrombotic agent BAY 59-7939--an oral, direct Factor Xa inhibitor. In: *J Thromb Haemost* (2005) 3, S. 514–521.

Pisters R.; Lane D.A.; Nieuwlaat R.; Vos C.B. de; Crijns H.J.G.M.; Lip G.Y.H.: A novel user-friendly score (HAS-BLED) to assess 1-year risk of major bleeding in patients with atrial fibrillation: the Euro Heart Survey. In: *Chest* (2010) 5, S. 1093–1100.

Pollack C.V.: Coagulation assessment with the new generation of oral anticoagulants. In: *Emergency medicine journal : EMJ* (2015).

Psaty B.M.; Manolio T.A.; Kuller L.H.; Kronmal R.A.; Cushman M.; Fried L.P.; White R.; Furberg C.D.; Rautaharju P.M.: Incidence of and risk factors for atrial fibrillation in older adults. In: *Circulation* (1997) 7, S. 2455–2461.

Raghavan N.; Frost C.E.; Yu Z.; He K.; Zhang H.; Humphreys W.G.; Pinto D.; Chen S.; Bonacorsi S.; Wong P.C.; Zhang D.: Apixaban metabolism and pharmacokinetics after oral administration to humans. In: *Drug Metab Dispos* (2009) 1, S. 74–81.

Roche Diagnostics GmbH (2012): ADP Test, ASPI Test, TRAP Test, COL Test., 06673686001V2, 06673821001V2, 06674267001V2, 06673970001V2. Online verfügbar unter www.roche-diagnostics.de/diagnostics/systeme/gerinnungsdiagnostik/multiplate_analyzer/Seiten/testmenue_multiplate_analyzer.aspx, Stand 13.08.2014.

Rodgers G.M.; Cong J.; Goll D.E.; Kane W.H.: Activation of coagulation Factor V by calcium-dependent proteinase. In: *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* (1987) 3, S. 263–270.

Roehrig S.; Straub A.; Pohlmann J.; Lampe T.; Pernerstorfer J.; Schlemmer K.-H.; Reiner P.; Perzborn E.: Discovery of the novel antithrombotic agent 5-chloro-N-({(5S)-2-oxo-3-(3-oxomorpholin-4-yl)phenyl-1,3-oxazolidin-5-yl}methyl)thiophene-2-carboxamide (BAY 59-7939): an oral, direct factor Xa inhibitor. In: *J Med Chem* (2005) 19, S. 5900–5908.

Ruggeri Z.M.: Platelets in atherothrombosis. In: *Nat Med* (2002) 11, S. 1227–1234.

Sairaku A.; Yoshida Y.; Ando M.; Hirayama H.; Nakano Y.; Kihara Y.: A Head-to-Head Comparison of Periprocedural Coagulability Under Anticoagulation with Rivaroxaban Versus Dabigatran in Patients Undergoing Ablation of Atrial Fibrillation. In: *Clin Drug Investig* (2013) 11, S. 847–853.

Salmela B.; Joutsu-Korhonen L.; Armstrong E.; Lassila R.: Active online assessment of patients using new oral anticoagulants: bleeding risk, compliance, and coagulation analysis. In: *Semin. Thromb. Hemost.* (2012) 1, S. 23–30.

Shimizu T.; Nishihira J.; Watanabe H.; Abe R.; Honda A.; Ishibashi T.; Shimizu H.: Macrophage migration inhibitory factor is induced by thrombin and factor Xa in endothelial cells. In: *J Biol Chem* (2004) 14, S. 13729–13737.

Siemens Healthcare Diagnostics Inc. (2013): Hämostase-Diagnostik von Siemens Healthcare Diagnostics. Reagenzien, Kalibratoren, Kontrollen. Hg. v. Siemens Healthcare Diagnostics Inc. www.siemens.com/diagnostics (Best.-Nr. A91DX-233497-XC5-0000). Online verfügbar unter www.siemens.com/diagnostics, Stand 01.02.2017.

Snipelisky D.; Kauffman C.; Prussak K.; Johns G.; Venkatachalam K.; Kusumoto F.: A comparison of bleeding complications post-ablation between warfarin and dabigatran. In: *Journal of interventional cardiac electrophysiology : an international journal of arrhythmias and pacing* (2012) 1, S. 29–33.

Snipelisky D.; Ray J.C.; Ung R.; Duart M.; Kauffman C.; Kusumoto F.: A comparison of bleeding complications between warfarin, dabigatran, and rivaroxaban in patients undergoing cryoballoon ablation. In: *Journal of interventional cardiac electrophysiology : an international journal of arrhythmias and pacing* (2014) 3, S. 231–236.

Sobel M.; McNeill P.M.; Carlson P.L.; Kermode J.C.; Adelman B.; Conroy R.; Marques D.: Heparin inhibition of von Willebrand factor-dependent platelet function in vitro and in vivo. In: *J. Clin. Invest.* (1991) 5, S. 1787–1793.

Steppich B.; Dobler F.; Brendel L.C.; Hessling G.; Braun S.L.; Steinsiek A.L.; Deisenhofer I.; Hyseni A.; Roest M.; Ott I.: Effect of the FXa inhibitors Rivaroxaban and Apixaban on platelet activation in patients with atrial fibrillation. In: *J Thromb Thrombolysis* (2017) 4, S. 490–497.

Storey R.F.; Wilcox R.G.; Heptinstall S.: Differential effects of glycoprotein IIb/IIIa antagonists on platelet microaggregate and macroaggregate formation and effect of anticoagulant on antagonist potency. Implications for assay methodology and comparison of different antagonists. In: *Circulation* (1998) 16, S. 1616–1621.

Swart C.A. de; Nijmeyer B.; Roelofs J.M.; Sixma J.J.: Kinetics of intravenously administered heparin in normal humans. In: *Blood* (1982) 6, S. 1251–1258.

Takemoto C.M.; Streiff M.B.; Shermock K.M.; Kraus P.S.; Chen J.; Jani J.; Kickler T.: Activated Partial Thromboplastin Time and Anti-Xa Measurements in Heparin Monitoring. Biochemical Basis for Discordance. In: *American Journal of Clinical Pathology* (2013) 4, S. 450–456.

Technoclone GmbH (2013): Calibrators and Control plasmas for heparin, heparin-like anticoagulants, Xa inhibitors and direct thrombin inhibitors. Hg. v. Technoclone GmbH. Online verfügbar unter www.technoclone.com/products/coagulation/calibration-plasma/rivaroxaban-cal, Stand 13.08.2014.

Thacker E.L.; McKnight B.; Psaty B.M.; Longstreth, W T Jr; Dublin S.; Jensen P.N.; Newton K.M.; Smith N.L.; Siscovick D.S.; Heckbert S.R.: Association of body mass index, diabetes, hypertension, and blood pressure levels with risk of permanent atrial fibrillation. In: *J Gen Intern Med* (2013) 2, S. 247–253.

Tollefsen D.M.; Majerus D.W.; Blank M.K.: Heparin cofactor II. Purification and properties of a heparin-dependent inhibitor of thrombin in human plasma. In: *The Journal of biological chemistry* (1982) 5, S. 2162–2169.

Tripodi A.; Chantarangkul V.; Guinet C.; Samama M.M.: 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. In: *J. Thromb. Haemost.* (2011) 1, S. 226–228.

Vaziri S.M.; Larson M.G.; Benjamin E.J.; Levy D.: Echocardiographic predictors of nonrheumatic atrial fibrillation. The Framingham Heart Study. In: *Circulation* (1994) 2, S. 724–730.

Walenga J.M.; Jeske W.P.; Hoppensteadt D.; Fareed J.: Factor Xa inhibitors: today and beyond. In: *Curr Opin Investig Drugs* (2003) 3, S. 272–281.

Wang L.; Raghavan N.; He K.; Luetzgen J.M.; Humphreys W.G.; Knabb R.M.; Pinto D.J.; Zhang D.: Sulfation of o-demethyl apixaban: enzyme identification and species comparison. In: *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals* (2009) 4, S. 802–808.

Wang T.J.; Parise H.; Levy D.; D'Agostino, Ralph B Sr; Wolf P.A.; Vasan R.S.; Benjamin E.J.: Obesity and the risk of new-onset atrial fibrillation. In: *JAMA* (2004) 20, S. 2471–2477.

Weinz C.; Schwarz T.; Kubitzka D.; Mueck W.; Lang D.: Metabolism and excretion of rivaroxaban, an oral, direct factor Xa inhibitor, in rats, dogs, and humans. In: *Drug Metab Dispos* (2009) 5, S. 1056–1064.

Wildgoose P.; Kisiel W.: Activation of human factor VII by factors IXa and Xa on human bladder carcinoma cells. In: *Blood* (1989) 7, S. 1888–1895.

Wolf P.A.; Abbott R.D.; Kannel W.B.: Atrial fibrillation: a major contributor to stroke in the elderly. The Framingham Study. In: *Arch Intern Med* (1987) 9, S. 1561–1564.

Wolf P.A.; Abbott R.D.; Kannel W.B.: Atrial fibrillation as an independent risk factor for stroke: the Framingham Study. In: *Stroke* (1991) 8, S. 983–988.

Wong P.C.; Pinto, Donald J P; Zhang D.: Preclinical discovery of apixaban, a direct and orally bioavailable factor Xa inhibitor. In: *J Thromb Thrombolysis* (2011) 4, S. 478–492.

Woods C.E.; Olgin J.: Atrial Fibrillation Therapy Now and in the Future. Drugs, Biologicals, and Ablation. In: *Circulation Research* (2014) 9, S. 1532–1546.

Zhang D.; He K.; Raghavan N.; Wang L.; Mitroka J.; Maxwell B.D.; Knabb R.M.; Frost C.; Schuster A.; Hao F.; Gu Z.; Humphreys W.G.; Grossman S.J.: Comparative metabolism of ¹⁴C-labeled apixaban in mice, rats, rabbits, dogs, and humans. In: *Drug Metab Dispos* (2009) 8, S. 1738–1748.

8 Anhang

Tabelle 1: Charakteristika der Patienten mit Radiofrequenz-Ablation unter Medikation mit Rivaroxaban und Apixaban: Demographie, klinischer Parameter, Medikation.

Charakteristika des Patientenkollektivs	Rivaroxaban-Gruppe (n = 73)	Apixaban-Gruppe (n = 17)	p-Wert
Demographie			
Alter (a)	60,4±12,2	64,4±9,1	0,27
Alter ≥ 75 (a)	6 (8)	1 (6)	0,75
Männlich	51 (71)	8 (47)	0,06
Body mass index (kg/m ²)	27,4±4,4	27,8±5,1	0,70
Krankengeschichte			
Vorhofflimmern Typ			
Paroxysmal	39 (53)	8 (47)	0,64
Persistierend	21 (29)	6 (35)	0,60
Z.n. Ablation	25 (36)	7 (41)	0,66
Dauer der Rhythmusstörung, (Mt.)	38±43	59±47	0,07
Herzinsuffizienz (LVEF < 40 %)	3 (4)	1 (6)	0,75
Hypertension	48 (66)	13 (76)	0,40
Diabetes Mellitus	6 (8)	3 (18)	0,24

Z.n TIA oder Schlaganfall	4 (6)	1 (6)	0,96
Koronare Herzerkrankung	11 (15)	8 (47)	<0,01
Glomeruläre Filtrationsrate (ml/min)	97,1±32,9	86,8±33,5	0,26
GFR 35-50 ml/min	3 (4)	3 (18)	0,18
CHADS ₂ Score, Mittelwert	0,9±0,9	1,2±1,2	0,25
CHA ₂ DS ₂ -VASc Score, Mittelwert	1,8±1,5	2,8±1,5	0,02
0	22 (30)	1 (6)	0,25
1	11 (15)	3 (18)	0,38
≥ 2	39 (53)	13 (76)	0,43
Mittlere Größe linkes Atrium (mm)	43±7	43±7	0,64
Mittler LVEF, %	59±5	57±6	0,05
Medikation			
Acetylsalicylsäure	11 (15)	6 (35)	0,06
Clopidogrel	0 (0)	1 (6)	0,04
ACE Inhibitor / ARB	28 (38)	9 (53)	0,27
Beta Blocker	64 (88)	16 (94)	0,45
Calcium Kanal Blocker	6 (8)	4 (24)	0,07
Digoxin/Digitoxin	3 (4)	1 (6)	0,75
Statin	26 (36)	9 (53)	0,19

Diuretikum	14 (19)	8 (47)	0,02
------------	---------	--------	------

Werte als Mittelwerte \pm Standardabweichung oder als Anzahl n (%); ACE, Angiotensin-converting Enzyme; ARB, Angiotensin Receptor Blocker; GFR, Glomeruläre Filtrationsrate; LVEF, Left Ventricular Ejection Fraction; TIA, Transient Ischemic Attack; Z.n., Zustand nach

Tabelle 2: Vergleich der Prozedurdaten zwischen Patienten mit Rivaroxaban- und Apixaban-Einnahme.

Prozedur Variablen	Rivaroxaban- Gruppe (n = 73)	Apixaban- Gruppe (n = 17)	p-Wert
Rhythmus bei Prozedurbeginn			
Sinusrhythmus	39 (53)	8 (47)	0,64
Vorhofflimmern	22 (31)	6 (35)	0,71
Vorhofflattern	12 (16)	3 (18)	0,90
Prozedurdauer (min)	169 (125; 218)	180 (133; 240)	0.40
Durchleuchtungsdauer (min)	19 (12; 30)	20 (11; 31)	0.93
RF-Dauer (min)	49 (25; 70)	44 (28; 74)	0.71
Intraprozedurale Kardioversion	20 (27)	1 (6)	0.06
Pulmonalvenenisolation	70 (96)	17 (100)	0.40
Ziehen von Dachlinien	27 (37)	8 (47)	0.44
Substratmodifikation (CFAE)	23 (32)	5 (29)	0.87

Werte als Median (25. und 75. Perzentile) oder als Anzahl n (%); CFAE, Complex Fractionated Atrial Electrogram; RF, Radio Frequency

Tabelle 3: Vergleich der Daten zur Antikoagulation mit Heparin während der Radiofrequenz-Ablation von Patienten unter Medikation mit Rivaroxaban oder Apixaban sowie den durchgeführten ACT-Messungen.

Heparingabe und ACT-Messungen	Rivaroxaban-Gruppe (n = 73)	Apixaban-Gruppe (n = 17)	p-Wert
Ausgangs-ACT (sec)	149 (140; 195)	130 (115; 171)	0.02
Längste ACT (sec)	313 (294; 340)	302 (272; 325)	0.32
Mittlere ACT (sec)	260 (237; 278)	234 (223; 250)	0.01
Gesamt Heparin Menge (IE)	9125 (6838; 12288)	11350 (7700; 13650)	0.06
Gesamt Heparin Menge/Körpergewicht/Stunde (IE/kg/h)	40 (34; 46)	49 (35; 55)	0,31

Werte als Median (25. und 75. Perzentile) oder als Anzahl n (%); ACT, Activated Clotting Time; IE, Internationale Einheit

Tabelle 4: Vergleich der Laborwerte vor Heparingabe, 10 Minuten danach, 60 Minuten danach, und 360 Minuten danach. Es wird zwischen Patienten unter Medikation mit Rivaroxaban und Apixaban unterschieden.

Labordaten	Rivaroxaban- Gruppe	Apixaban- Gruppe	p-Wert
Anti-Faktor-Xa (ng/ml)	(n = 73)	(n = 17)	
Vor Heparin	194 (138, 263)	197 (143, 225)	0.95
10 min nach Heparin	216 (177, 286) **	348 (308, 392) ***	< 0.001
60 min nach Heparin	203 (163, 245)	360 (346, 398) ***	< 0.001
360 min nach Heparin	157 (113, 189) **	272 (240, 315) **	< 0.001
TPZ (%)	(n = 73)	(n = 17)	
Vor Heparin	61 (56, 71)	85 (73, 94)	< 0.001
10 min nach Heparin	46 (41, 53) ***	51 (43, 55) ***	0.25
60 min nach Heparin	47 (43, 53) ***	53 (48, 59) ***	0.02
360 min nach Heparin	68 (59, 76) ***	73 (54, 86) **	0.35
INR (Verhältniszahl)	(n = 73)	(n = 17)	
Vor Heparin	1,2 (1,2; 1,3)	1,1 (1,0; 1,1)	< 0.001
10 min nach Heparin	1,5 (1,4; 1,6) ***	1,4 (1,3; 1,5) ***	0.27
60 min nach Heparin	1,4 (1,3; 1,5) ***	1,3 (1,3; 1,4) ***	0.06
360 min nach Heparin	1,2 (1,1; 1,3)	1,2 (1,1; 1,3) **	0.53

aPTT (s)	(n = 73)	(n = 17)	
Vor Heparin	41 (37, 46)	33 (31, 35)	< 0.001
10 min nach Heparin	>150***	>150***	>0.99
60 min nach Heparin	>150***	>150***	>0.99
360 min nach Heparin	80 (44, 199)***	199 (69, 199)**	0.12
Fibrinogen (mg/dl)	(n = 73)	(n = 17)	
Vor Heparin	281 (236, 343)	294 (263, 340)	0,44
10 min nach Heparin	233 (215, 284) ***	260 (212, 280) ***	0,52
60 min nach Heparin	230 (214, 272) ***	252 (222, 279) ***	0,46
360 min nach Heparin	244 (226, 310) ***	250 (218, 341) *	0,76
D-Dimere (mg/l)	(n = 73)	(n = 17)	
Vor Heparin	0,05 (0,05; 0,38)	0.05 (0.05, 0.30)	0.67
10 min nach Heparin	0,05 (0,05; 0,4)	0,4 (0,3; 0,4)**	0.06
60 min nach Heparin	0,3 (0,05; 0,4)***	0,4 (0,4; 0,6)***	<0.01
360 min nach Heparin	0,3 (0,05; 0,5)**	0,4 (0,35; 0,5)**	0.04
Prothrombinfragmente (pmol/l)	F1/F2 (n = 73)	(n = 17)	
Vor Heparin	134 (93, 211)	144 (121, 179)	0.32
10 min nach Heparin	142 (106, 189)	176 (161, 183)	0.05

60 min nach Heparin	143 (108, 175)	168 (165, 233)	0.01
360 min nach Heparin	162 (124, 234)***	173 (135, 182)	0.98
ETP (nmol x min/l)	(n = 73)	(n = 17)	
Vor Heparin	936 (803, 1082)	836 (758, 1063)	0.66
10 min nach Heparin	0***	0**	
60 min nach Heparin	0***	0**	
360 min nach Heparin	0 (0, 681) ***	0 (0, 0) **	0.03
CAT Peak (nmol/l)	(n = 73)	(n = 17)	
Vor Heparin	70 (52, 100)	62 (57, 95)	0.80
10 min nach Heparin	0***	0**	
60 min nach Heparin	0***	0**	
360 min nach Heparin	2 (0, 38) ***	0 (0, 0) **	0.01
Anti-Thrombin III (%)	(n = 73)	(n = 17)	
Vor Heparin	123 (108, 134)	114 (104, 124)	0.44
10 min nach Heparin	118 (105, 131)*	106 (97, 117)**	0.05
60 min nach Heparin	112 (99, 126)***	109 (104, 114)*	0.83
360 min nach Heparin	105 (98, 114)***	100 (97, 112)**	0.52
MP ADP Test (U)	(n = 73)	(n = 17)	
Vor Heparin	710 (560, 865)	811 (664, 952)	0,04
10 min nach Heparin	756 (593, 925) **	879 (721, 978)	0,09

60 min nach Heparin	741 (565, 901)	838 (753, 915)	0,13
360 min nach Heparin	510 (345, 721) **	709 (621, 891) *	0,01
MP ASPI Test (U)	(n = 73)	(n = 17)	
Vor Heparin	793 (577, 989)	968 (905, 1039)	0,47
10 min nach Heparin	776 (570, 935)	881 (775, 986) *	0,25
60 min nach Heparin	801 (559, 981)	926 (607, 964) *	0,53
360 min nach Heparin	653 (388, 783) ***	854 (609, 1095) *	0,05
MP (Kollagen) COL Test (U)	(n = 73)	(n = 17)	
Vor Heparin	645 (504, 817)	740 (626, 842)	0,16
10 min nach Heparin	587 (460, 756) *	670 (539, 786) *	0,43
60 min nach Heparin	603 (458, 809)	682 (462, 755) *	0,96
360 min nach Heparin	583 (410, 773)	747 (538, 878)	0,27
MP (SFLLRN Peptid) TRAP Test (U)	(n = 73)	(n = 17)	
Vor Heparin	1098 (917, 1247)	1178 (965, 1358)	0,27
10 min nach Heparin	1120 (880, 1287) *	1079 (987, 1346)	0,89
60 min nach Heparin	1098 (924, 1303)	1093 (961, 1183)	0,95
360 min nach Heparin	919 (704, 1137) **	1080 (850, 1325)	0,09
TE EXTEM Clotting Time (s)	(n = 73)	(n = 17)	
Vor Heparin	106 (87, 140)	80 (77, 108)	0,01
10 min nach Heparin	179 (137, 240) ***	179 (143, 286) **	0,70

60 min nach Heparin	182 (146, 256) ***	181 (130, 254) **	0,83
360 min nach Heparin	100 (81, 125)	104 (88, 118)	0,95
TE EXTEM Clotting Formation Time (s)	(n = 73)	(n = 17)	
Vor Heparin	91 (78, 107)	83 (75, 96)	0,18
10 min nach Heparin	101 (84, 127) **	95 (82, 129)	0,83
60 min nach Heparin	102 (91, 119) *	94 (76, 108)	0,23
360 min nach Heparin	92 (82, 116)	86 (74, 108)	0,29
TE EXTEM Alpha-Winkel (°)	(n = 73)	(n = 17)	
Vor Heparin	72 (69, 75)	74 (70, 75)	0,25
10 min nach Heparin	70 (67, 73) **	72 (68, 74)	0,23
60 min nach Heparin	70 (67, 72) **	72 (69, 75)	0,11
360 min nach Heparin	72 (68, 74)	72 (71, 76)	0,15
TE EXTEM Maximal Clot Firmness (mm)	(n = 73)	(n = 17)	
Vor Heparin	62 (60, 66)	65 (61, 69)	0,24
10 min nach Heparin	62 (58, 65) *	64 (59, 70)	0,21
60 min nach Heparin	61 (58, 64) **	63 (58, 68)	0,38
360 min nach Heparin	63 (60, 66)	63 (62, 68)	0,41
TE INTEM Clotting Time (s)	(n = 73)	(n = 17)	
Vor Heparin	239 (201, 305)	198 (172, 224)	<0,01

10 min nach Heparin	929 (608, 1439) ***	801 (628, 1346) **	0,74
60 min nach Heparin	857 (630, 1334) ***	809 (703, 1225) **	0,96
360 min nach Heparin	305 (239, 413) **	364 (261, 399) *	0,57
TE INTEM Clotting Formation Time (s)	(n = 73)	(n = 17)	
Vor Heparin	100 (84, 117)	83 (68, 96)	0,04
10 min nach Heparin (CFT messbar)	220 (167, 383) ***	174 (155, 261) **	0,24
Grenzwert für CFT nicht erreicht	17 (24)	4 (29)	0,72
60 min nach Heparin (CFT messbar)	223 (169, 314) ***	185 (159, 311) **	0,70
Grenzwert für CFT nicht erreicht	12 (17)	4 (29)	0,38
360 min nach Heparin	110 (92, 141) **	127 (98, 377) **	0,21
TE INTEM Alpha-Winkel (°)	(n = 73)	(n = 17)	
Vor Heparin	70 (68, 73)	75 (72, 78)	0,02
10 min nach Heparin	45 (17, 57) ***	50 (4, 62) **	0,66
60 min nach Heparin	46 (33, 57) ***	44 (7, 58) **	0,53
360 min nach Heparin	69 (64, 72) *	66 (63, 71) *	0,65
TE INTEM Maximal Clot Firmness (mm)	(n = 73)	(n = 17)	
Vor Heparin	56 (52, 58)	59 (56, 62)	0,04

10 min nach Heparin	43 (20, 50) ***	43 (9, 48) **	0,77
60 min nach Heparin	47 (34, 53) ***	46 (13, 52) **	0,62
360 min nach Heparin	56 (53, 59)	55 (42, 59) **	0,30
TE FIBTEM Maximal Clot Firmness (mm)	(n = 73)	(n = 17)	
Vor Heparin	11 (8, 14)	11 (8, 14)	0,90
10 min nach Heparin	10 (8, 13)	10 (8, 13)	0,84
60 min nach Heparin	10 (8, 12) **	8 (5, 12) *	0,17
360 min nach Heparin	11 (10, 15) *	12 (9, 16)	0,94
Von-Willebrand-Faktor (µg/ml)	(n = 50)	(n = 7)	
Vor Heparin	11 (8, 14)	9 (8, 11)	0,48
10 min nach Heparin	10 (9, 13)	8 (7, 9)	0,08
60 min nach Heparin	10 (9, 14)	8 (8, 9)	0,26
360 min nach Heparin	12 (9, 18) **	15 (9, 17)	0,87
Akt. Von-Willebrand-Faktor (ng/ml)	(n = 50)	(n = 7)	
Vor Heparin	105 (78, 215)	235 (138, 294)	0,10
10 min nach Heparin	97 (77, 132) *	95 (65, 96) *	0,41
60 min nach Heparin	94 (76, 135) *	123 (104, 181)	0,17
360 min nach Heparin	128 (86, 221)	235 (156, 262)	0,18
Beta-Thromboglobulin (ng/ml)	(n = 50)	(n = 7)	

Vor Heparin	12 (9, 21)	10 (10, 14)	0,58
10 min nach Heparin	11 (7, 18)	6 (6, 17)	0,56
60 min nach Heparin	10 (7, 17)	9 (6, 18)	0,86
360 min nach Heparin	15 (7, 20)	9 (8, 22)	0,84
SP-Selectin (ng/ml)	(n = 50)	(n = 7)	
Vor Heparin	57 (46, 73)	60 (53, 74)	0,47
10 min nach Heparin	57 (48, 67)	54 (51, 57)	0,91
60 min nach Heparin	55 (48, 68)	68 (61, 80)	0,07
360 min nach Heparin	63 (55, 74)	64 (56, 88)	0,55
Thrombospondin (ng/ml)	(n = 50)	(n = 7)	
Vor Heparin	204 (114, 358)	180 (139, 213)	0,81
10 min nach Heparin	130 (91, 190) **	147 (127, 241)	0,26
60 min nach Heparin	126 (67, 270) **	106 (78, 219)	0,88
360 min nach Heparin	155 (76, 312)	240 (96, 253)	0,82
FaktorVII (µg/ml)	(n = 50)	(n = 7)	
Vor Heparin	190 (142, 222)	185 (154, 198)	0,50
10 min nach Heparin	188 (150, 225)	188 (133, 196)	0,27
60 min nach Heparin	175 (144, 201)	153 (124, 173)	0,16
360 min nach Heparin	186 (151, 224)	152 (124, 183)	0,11
Aktivierter FaktorVII (ng/ml)	(n = 50)	(n = 7)	

Vor Heparin	1 (0, 6)	10 (2, 31)	0,11
10 min nach Heparin	0 (0, 2)	0 (0, 1) *	0.83
60 min nach Heparin	0 (0, 0)**	0 (0, 0)*	0.71
360 min nach Heparin	0 (0, 4)	0 (0, 17)	0.90
Thrombin-Antithrombin-Komplex (pmol/l)	(n = 50)	(n = 7)	
Vor Heparin	5 (0, 20)	6 (2, 9)	0.83
10 min nach Heparin	3 (0, 13)	7 (5, 9)	0.58
60 min nach Heparin	0 (0, 9)*	0 (0, 5)	0.61
360 min nach Heparin	0 (0, 23)	0 (0, 3)	0.22

Werte als Median (25. und 75. Percentile) oder als Anzahl n (%); TPZ, Thromboplastinzeit; INR; International Normalized Ratio; PTT, Partielle Thromboplastinzeit; MP, Multiplate; ETP, Endogenes Thrombin Potential; CAT, Calibrated Automated Thrombogram; TE, Thrombelastogramm; SP, Soluble Platelet

* p<0.05 im Vergleich zur Messung vor Heparinegabe

** p<0.01 im Vergleich zur Messung vor Heparinegabe

*** p<0.001 im Vergleich zur Messung vor Heparinegabe

Tabelle 5: Vergleich der Komplikationen zwischen Patienten unter Medikation mit Rivaroxaban und Apixaban.

Klinische Komplikationen	Rivaroxaban- Gruppe (n = 73)	Apixaban- Gruppe (n = 17)	Gesamt (n = 90)	p-Wert
Schwerwiegende Blutungskomplikationen	0 (0)	0 (0)	0 (0)	>0,99
Herztamponade	0 (0)	0 (0)	0 (0)	>0,99
Leistenhämatom mit Gefäßchirurgischer Behandlung	0 (0)	0 (0)	0 (0)	>0,99
Leistenhämatom mit Bluttransfusion	0 (0)	0 (0)	0 (0)	>0,99
Retroperitoneale Blutung	0 (0)	0 (0)	0 (0)	>0,99
Leichte Blutungskomplikationen	3 (4,1)	1 (5,9)	4 (4,4)	0,78
Perikard Erguss ohne Tamponade > 5mm	1 (1,4)	1 (5,9)	2 (2,2)	0,46
Leistenhämatom > 5cm	2 (2,7)	0 (0)	2 (2,2)	0,16
Gesamte Blutungskomplikationen	3 (4,1)	1 (5,9)	4 (4,4)	0,78
Embolische Komplikationen	0 (0)	0 (0)	0 (0)	>0,99
Tod	0 (0)	0 (0)	0 (0)	>0,99
Zusammenfassung von blutungs- und embolischen Komplikationen sowie Tod	3 (4,1)	1 (5,9)	4 (4,4)	0,78

Werte als Anzahl n (%)

Danksagung

Meinen größten Dank möchte ich meiner Mentorin Frau Prof. Dr. Ilka Ott für die guten Ratschläge sowie die große Hilfsbereitschaft im praktischen Teil der Arbeit, als auch während der Ausarbeitung meiner Dissertation, aussprechen.

Bedanken möchte ich mich bei allen Ärzten und Mitarbeitern des Deutschen Herzzentrums München für die konstruktive und angenehme Zusammenarbeit. Besonders möchte ich mich auch bei PD Dr. Birgit Steppich bedanken, die mich bei der Organisation sehr freundlich und engagiert unterstützte.

Außerdem möchte ich einen sehr herzlichen Dank an alle Patienten aussprechen, die sich bereiterklärt haben an dieser Studie teilzunehmen.

Ein besonderer Dank gilt meinen Eltern Rosemarie und Bernd, die mich auf meinem Weg durch das Medizinstudium unermüdlich begleitet und unterstützt haben sowie meiner Verlobten Jennifer, die mir in jeder Situation zur Seite gestanden ist.