

Aus dem Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin  
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

**Evaluierung der Prothrombinase-induzierten  
Gerinnungszeit zum Monitoring der  
Antikoagulation mit niedermolekularen  
Heparinen und Heparinoiden**

Inauguraldissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin

der Universitätsmedizin  
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz  
vorgelegt von

Kerstin Wildberger  
aus Homburg/Saar-Pfalz-Kreis

Mainz, 2011

Wissenschaftlicher  
Vorstand:

1. Gutachter:

2. Gutachter:

Tag der Promotion: 12.04.2011

# Inhaltsverzeichnis

## Abkürzungsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Literaturdiskussion</b>	<b>3</b>
<b>2.1</b>	<b>Antikoagulantien</b>	<b>3</b>
2.1.1	Heparine	3
2.1.1.1	Unfraktioniertes Heparin	3
2.1.1.2	Niedermolekulare Heparine	6
2.1.2	Heparinoide	7
2.1.2.1	Danaparoid	8
<b>2.2</b>	<b>Monitoring</b>	<b>9</b>
2.2.1	Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT)	9
2.2.2	Anti-Faktor Xa-Aktivität (aXa)	10
2.2.3	Prothrombinase-induzierte Gerinnungszeit (PiCT)	13
<b>3</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>16</b>
<b>3.1</b>	<b>Patientenauswahl</b>	<b>16</b>
<b>3.2</b>	<b>Datenerhebung</b>	<b>17</b>
<b>3.3</b>	<b>Probengewinnung</b>	<b>17</b>
<b>3.4</b>	<b>Gerinnungstests</b>	<b>18</b>
3.4.1	Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT)	18
3.4.2	Anti-Faktor Xa-Aktivität (aXa)	19
3.4.3	Prothrombinase-induzierte Gerinnungszeit (PiCT)	20
<b>3.5</b>	<b>Datenanalyse</b>	<b>21</b>
<b>3.6</b>	<b>Kollektivbeschreibung</b>	<b>22</b>
3.6.1	Gesamtkollektiv	22
3.6.2	Medikamentengruppen	22
3.6.3	Untergruppen	24
3.6.3.1	Schwangere	25
3.6.3.2	Adipöse	25
3.6.3.3	Niereninsuffiziente	26
3.6.3.4	Unselektiertes Kollektiv	27
3.6.4	Überschneidungen	28
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>29</b>
<b>4.1</b>	<b>Gesamtkollektiv</b>	<b>29</b>
<b>4.2</b>	<b>Medikamentengruppen</b>	<b>33</b>
4.2.1	Clexane	33
4.2.2	Fragmin	33
4.2.3	Fragmin P forte	34
4.2.4	Orgaran	35
4.2.5	UFH	35
4.2.6	Zusammenfassung Ergebnisse Medikamentengruppen	44
<b>4.3</b>	<b>Untergruppen</b>	<b>45</b>
4.3.1	Schwangere	45
4.3.2	Adipöse	46
4.3.2.1	NMH	46
4.3.2.2	UFH	46
4.3.3	Niereninsuffiziente	47
4.3.4	unselektiertes Kollektiv	47
4.3.4.1	NMH	47

4.3.4.2	UFH.....	48
4.3.5	Zusammenfassung Ergebnisse Untergruppen.....	49
<b>4.4</b>	<b>Vergleich der Messwerte im Bereich hoher aXa-Konzentrationen .....</b>	<b>51</b>
<b>4.5</b>	<b>Abnahmezeitpunkt .....</b>	<b>52</b>
<b>5</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>53</b>
<b>5.1</b>	<b>Gegenstand des Monitorings: Die untersuchten Patientengruppen .....</b>	<b>56</b>
5.1.1	Schwangere.....	56
5.1.2	Adipöse.....	57
5.1.3	Niereninsuffiziente .....	58
<b>5.2</b>	<b>Probleme beim Monitoring .....</b>	<b>60</b>
5.2.1	Geringe Standardisierung der Präanalytik .....	60
5.2.1.1	Abnahmezeitpunkt .....	60
5.2.1.2	Vorbereitung der Proben und Messbedingungen .....	60
5.2.2	Geringe Standardisierung der Tests.....	61
5.2.2.1	Kalibration .....	61
5.2.2.2	Reagenzien .....	62
5.2.2.3	Messprinzip .....	63
5.2.2.4	Ansätze zur Verbesserung der Korrelation.....	65
5.2.3	Geringe Standardisierung der Zielbereiche.....	66
5.2.3.1	Keine einheitlichen Zielbereiche .....	66
5.2.3.2	Unklare Beziehung zu klinischem Outcome .....	68
<b>5.3</b>	<b>Schlussfolgerungen .....</b>	<b>69</b>
5.3.1	Anwendung aXa-Tests .....	69
5.3.2	Bedingungen für sinnvolles Monitoring.....	70
5.3.2.1	Bessere Standardisierung.....	70
5.3.2.2	Besser definierte Beziehung zu klinischem Outcome .....	71
5.3.3	Alternative Monitoring-Methode.....	73
5.3.4	Ausblick .....	74
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>77</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>79</b>
	<b>Danksagung.....</b>	<i>Fehler! Textmarke nicht definiert.</i>
	<b>Lebenslauf .....</b>	<i>Fehler! Textmarke nicht definiert.</i>

## Abkürzungsverzeichnis

a	aktiviert
Abb.	Abbildung
ACCP	American College of Chest Physicians
alla	anti-Faktor IIa-Aktivität
aPTT	aktivierte partielle Thromboplastinzeit
AT	Antithrombin
aXa	anti-Faktor Xa-Aktivität
BAP	Bland-Altman Plot
BMI	Body Mass Index
DTI	direkter Thrombininhibitor
DXI	direkter Faktor Xa-Inhibitor
E	Einheiten
ECT	Ecarin Clotting Time
et al.	und andere
F	Faktor, Gerinnungsfaktor
FXa	aktivierter Faktor X
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
HIT	Heparin-induzierte Thrombozytopenie
i.v.	intravenös
IE	internationale Einheiten
INR	International Normalized Ratio
J.	Jahre
KG	Körpergewicht
Konz.	Konzentration
Krea	Kreatinin
Max. / max.	Maximum/ maximal
MDRD	Modification of Diet in Renal Diseases
Min./ min.	Minimum/ minimal
n	Anzahl
NKF	National Kidney Foundation
NMH	niedermolekulares Heparin
p.i.	nach Injektion

PCF	platelet contractile force
PF 4	Plättchenfaktor 4
PiCT	Prothrombinase induced clotting time, Prothrombinase-induzierte Gerinnungszeit
RES	Retikuloendotheliales System
RVV-V	Russel Viper Venom factor V activator
s.c.	subkutan
Tab.	Tabelle
TF	tissue factor
TFPI	tissue factor pathway inhibitor
TGT	Thrombin generation time, Thrombingenerierungszeit
UFH	unfraktioniertes Heparin
VKA	Vitamin K-Antagonist
WHO	World Health Organization

## 1 Einleitung

Die Herausforderungen des klinischen Alltags sind heute nicht zuletzt durch den wachsenden Anteil an kritisch kranken bis multimorbiden Patienten bestimmt:

Das zunehmend hohe Alter, immer häufigeres Übergewicht oder die steigende Zahl maligner Erkrankungen erhöhen das Risiko eines thrombotischen Ereignisses immens (1) und führen dazu, dass arterielle und venöse Thrombosen eine der Hauptursachen für Morbidität und Mortalität in der westlichen Welt darstellen (2, 3).

Dies lässt eine suffiziente Thromboseprophylaxe und –therapie zu einem zentralen Thema jeden medizinischen Fachgebietes werden.

Die in vielen Fällen zwingende Erfordernis einer effektiven Antikoagulation führt schnell zu den diese Thematik begleitenden Begrenzungen und Problemen; die perfekte Gerinnungshemmung mit oraler Verfügbarkeit, schnell einsetzendem Effekt und minimalen Nebenwirkungen existiert nicht (1).

Zwar konnte durch die Entwicklung der niedermolekularen Heparine (NMH) ein bedeutender Schritt in Richtung Therapiesicherheit gemacht werden, nach wie vor bleibt jedoch bei allen verfügbaren Antikoagulantien die Hauptkomplikation der Blutung, auch bei Einhaltung der therapeutischen Grenzen (4).

Daraus ergibt sich die Notwendigkeit einer adäquaten Kontrollmethode, um eine ausreichende gerinnungshemmende Wirkung mit kleinstmöglichem Risiko für Blutungsereignisse zu gewährleisten.

Die gängigen Tests zur Überwachung der antikoagulatorischen Therapie sind der Quick-Test (Prothrombinzeit) bzw. die International Normalized Ratio (INR) bei Vitamin K-Antagonisten (VKA), die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) für unfractionierte Heparine (UFH), die Bestimmung der anti-Faktor Xa-Aktivität (aXa) bei NMH und Heparinoiden, und die Ecarin Clotting Time (ECT) bei direkten Thrombininhibitoren (DTI).

Jedoch weisen diese Routineverfahren bedeutende Einschränkungen auf.

Die aPTT-Messung ist durch eine variable Antwort auf Heparin bei verschiedenen Reagenzien und Messgeräten geprägt und somit kaum zu standardisieren (5, 6).

Auch bei der aXa-Testung sind große Ergebnisunterschiede zwischen den verfügbaren Methoden bekannt (7).

Seit Jahrzehnten besteht zwischen Experten eine Debatte über den Nutzen und die Bedeutung der aXa-Bestimmung. Es fehlen nach wie vor Daten, die eine eindeutige Korrelation zwischen den gemessenen aXa-Levels und dem klinischem Outcome des Patienten beweisen (8).

Ein Messverfahren, das zuverlässige und vergleichbare Ergebnisse liefert, auf deren Grundlage das Blutungsrisiko eingeschätzt werden kann, wäre der Schlüssel zur bestehenden Diskussion.

Daher liegt ein besonderes Augenmerk der hämatologischen Forschung auf der Entwicklung von neuen Testmethoden, mit der Zielsetzung, die Nachteile der Routineverfahren auszuräumen.

Die Prothrombinase-induzierte Gerinnungszeit (PiCT) ist ein relativ neues Verfahren, das als Universaltest den Anspruch erhebt, zur Therapiekontrolle verschiedener Gerinnungshemmer geeignet zu sein (9).

Ziel der vorliegenden Studie ist es, zu evaluieren, ob die PiCT bei unterschiedlichen Medikamenten und verschiedenen Einflussfaktoren die gleichen Messwerte liefern kann wie die etablierten Verfahren, und sich somit nicht nur zum Monitoring eignet, sondern eventuell sogar die bestehenden Tests in ihrer Güte übertreffen kann.



## 2 Literaturdiskussion

### 2.1 Antikoagulantien

Seit über 60 Jahren bilden Heparine und Cumarine die Pfeiler der antikoagulatorischen Therapie (4).

Sie sind effektiv, günstig, weithin verbreitet und haben spezifische Antidots, benötigen jedoch eine sorgfältige Therapieüberwachung. In manchen Fällen kommt es aber trotzdem zum Auftreten prothrombotischer Effekte (z.B. Cumarin-Nekrose bei VKA und HIT II bei Heparinen). Dies führte zur Entwicklung weiterer Präparate mit dem Potential, die gängigen Agenzien zu ersetzen (4).

Gegenwärtig unterscheidet man zwei Klassen von Antikoagulantien: direkte und indirekte.

Indirekte Antikoagulantien entfalten ihre Wirkung mit Hilfe von Plasma-Cofaktoren und besitzen selbst keine intrinsische Wirkung. Zu dieser Klasse zählen UFH, NMH, Heparinoide wie Danapariod und das synthetische Pentasaccharid Fondaparinux. Sie wirken über die Verstärkung von Antithrombin (AT), welches als endogener Inhibitor vieler Gerinnungsfaktoren fungiert. Des Weiteren gibt es Präparate, die ihre indirekte Wirkung über Heparin-Cofaktor II oder Protein C entfalten (2).

Zu der zweiten Klasse zählen Gerinnungshemmer, die ihre Wirkung in der direkten Beeinflussung von Gerinnungsfaktoren haben. Direkte Thrombininhibitoren sind z.B. Hirudin, Bivalirudin und Argatroban. Medikamente, für die FIXa oder FXa als Angriffspunkt dienen, befinden sich gerade in Entwicklung (10).

Die in der vorliegenden Untersuchung verwendeten Medikamente sollen im Folgenden näher betrachtet werden.

#### 2.1.1 Heparine

##### 2.1.1.1 Unfraktioniertes Heparin

UFH ist ein sulfatiertes Mucopolysaccharid mit einem mittleren Molekulargewicht von 15 kDa, das aus Schweinedarmmukosa gewonnen wird (11).

Der wichtigste Anwendungsbereich von UFH ist die Prophylaxe und Therapie von thrombembolischen Ereignissen (u.a. tiefe Venenthrombose, Lungenembolie, akutes Koronarsyndrom). Darüber hinaus wird das Präparat auch in der Herz- und Gefäßchirurgie, bei intravaskulären Katheterinterventionen, Leberersatzverfahren, und der Plasmapherese erfolgreich eingesetzt (5, 12, 13). Da Heparin die Plazentaschranke nicht passiert, kann es auch während der Schwangerschaft verabreicht werden (14).

Seine gerinnungshemmende Wirkung besteht in der Bildung eines Komplexes mit AT, wodurch dessen Wirksamkeit um das 1000-fache verstärkt wird (1). AT inhibiert Thrombin (FIIa) und die Faktoren IXa, Xa, XIa und XIIa und verhindert somit die Gerinnungsbildung (10). Dadurch wird auch die Thrombin-induzierte Aktivierung von Thrombozyten und den Faktoren V, VIII und XIII gehemmt (12) (siehe Abb.1).

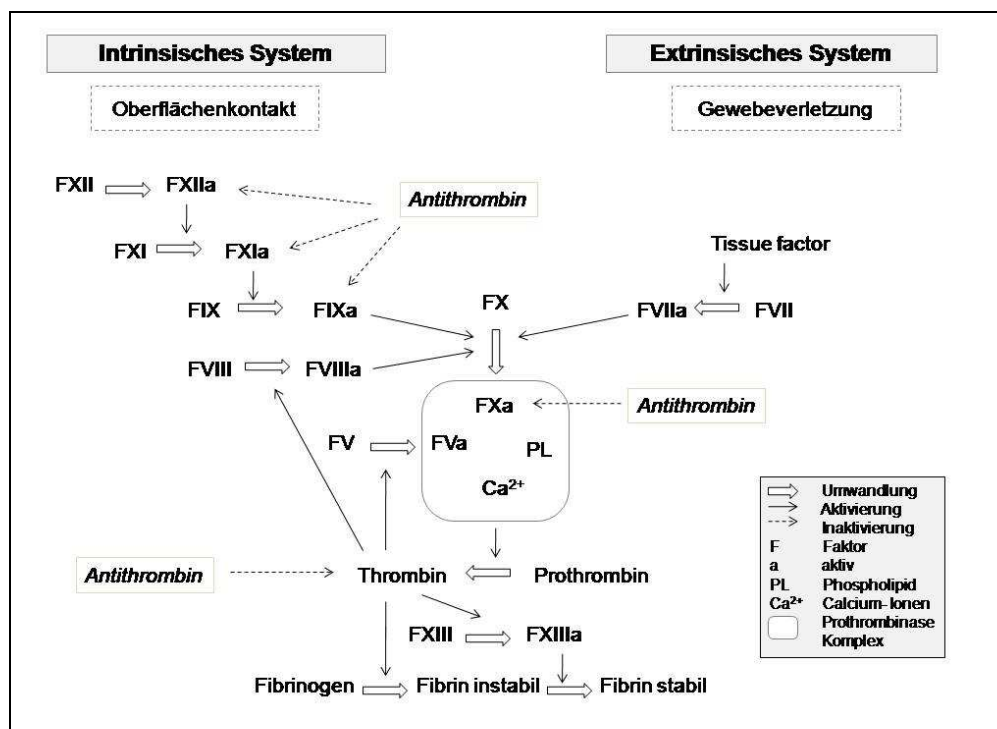


Abbildung 1: Schematische Darstellung der plasmatischen Gerinnung mit Angriffspunkten des Antithrombins. Modifiziert nach (17).

UFH verfügt über eine hohe Bindungsneigung zu Plasmaproteinen und Zellen, woraus eine komplexe Pharmakokinetik und eine individuell sehr unterschiedliche Heparinsensitivität resultieren (15).

Um die Aufnahme zu gewährleisten, muss UFH parenteral verabreicht werden. Die Eliminierung erfolgt über eine Kombination aus einem schnellen

Sättigungsmechanismus, der die Bindung an Endothelzellen mit Abbau über das RES beinhaltet, und einem Nicht-Sättigungsmechanismus mit Ausscheidung über die Nieren (16). Nach Injektion werden etwa 40% des Medikaments über den schnellen Mechanismus eliminiert. Erst wenn hierbei alle Bindungsstellen abgesättigt sind, kommt es zu einer linearen Dosis-Wirkungs-Beziehung und es kann sich ein therapeutischer Spiegel einstellen (17).

Das Bindungsverhalten von UFH an Zellen kann verschiedene Nebenwirkungen zur Folge haben, wie z.B. Osteoporose durch Bindung an Osteoblasten. Eine andere wichtige Nebenwirkung resultiert aus der Bindung des Präparats an Thrombozyten: die Heparin-induzierte Thrombozytopenie (HIT).

Die nicht-immunologische Form der HIT (Typ I) manifestiert sich in den ersten Tagen der Therapie und führt zu einem milden Abfall der Thrombozytenzahl, was sich nach wenigen Tagen spontan normalisiert (18).

HIT II hingegen ist eine immunologisch bedingte schwere Komplikation der Heparinbehandlung, die mit venöser oder arterieller Thrombose assoziiert ist. Es kommt meist zwischen dem 5. und 14. Tag zu einem durch Autoantikörper verursachten schnellen Abfall der Thrombozytenzahl und in der Hälfte der Fälle zum Auftreten lebensbedrohlicher Trombosen (v.a. Lungenembolie) (18). Bei der Behandlung mit UFH liegt die Inzidenz bei etwa 1-3%; da es bei NMH zu einer geringeren Antikörperbildung gegen Thrombozyten kommt, ist das HIT II-Risiko hier niedriger (19). Beim Auftreten von HIT II wird der Wechsel auf ein anderes Antikoagulans, z.B. Danaparoid, Lepirudin, Argatroban, empfohlen (13).

Neben Osteoporose und Heparin-induzierter Thrombozytopenie ist das Auftreten einer Blutung die bedeutendste Komplikation der UFH-Therapie.

Hierfür sind laut Blann und Khoo (1) die folgenden Variablen entscheidend:

- verabreichte Medikamentenmenge
- Darreichungsform
- antikoagulatorische Antwort des Patienten
- andere patientenbezogene Faktoren wie z.B. Niereninsuffizienz oder chronischer Alkoholabusus

Da der Grad der Antikoagulation beim einzelnen Patienten durch die komplexe Pharmakokinetik des Medikaments variabel ist (10, 20), ist das richtige Einschätzen des individuellen Blutungsrisikos schwierig. Eine Antagonisierung der Heparinwirkung durch das Antidot Protamin kann notwendig werden.

Daher ist es Standard, die Therapie mit UFH zu überwachen und die Dosis basierend auf den Ergebnissen der Gerinnungstests ggf. anzupassen. Hierzu dient in der Regel die Bestimmung der aPTT. Der therapeutische Zielbereich liegt bei einer Verlängerung der Gerinnungszeit um das 1,5 bis 2,5-fache des Kontrollwerts (10).

#### 2.1.1.2 Niedermolekulare Heparine

Die Herstellung der NMH erfolgt aus UFH durch kontrollierte Depolymerisierung. Ihre biologischen Eigenschaften werden hauptsächlich von ihrem Molekulargewicht bestimmt, das im Mittel bei 3-5 kDa liegt (10).

NMH weisen im Gegensatz zu UFH kürzere Polysachharidketten auf. Da zur Verbindung von AT und Thrombin eine Kettenlänge von mindestens 18 Sacchariden notwendig ist, beruht der gerinnungshemmende Effekt der NMH hauptsächlich auf der FXa-Hemmung, die keiner Verbindung bedarf. Durch die relativ verminderte Inhibierung von Thrombin ergibt sich für NMH ein aXa/ aIIa-Verhältnis zwischen 2:1 und 4:1 (abhängig von der Verteilung der Molekülgröße). Bei UFH ist das Verhältnis etwa 1:1. Für einen Einfluss dieses Unterschiedes auf das klinische Outcome gibt es in der Literatur bisher keine Beweise (10).

Aus der Fragmentierung des Heparins zu NMH resultiert eine verminderte Bindung an Plasmaproteine und Zellen (5), woraus sich bedeutende Vorteile im Vergleich zu UFH ergeben (1, 10, 13):

- vorhersagbarere antikoagulatorische Wirkung durch geringere Proteinbindung. Dadurch ist klinisches Monitoring nicht zwingend notwendig.
- verlängerte Plasma-Halbwertszeit durch verminderte Bindung an Makrophagen und dadurch verstärkte renale Eliminierung. Dies erlaubt die Einmal-Dosis pro Tag, woraus sich die Möglichkeit der ambulanten Behandlung ergibt.
- weniger Nebenwirkungen: vermindertes Osteoporose-Risiko (21) durch geringere Bindung an Osteoblasten, geringeres Auftreten von HIT II (22) durch verminderte Thrombozytenbindung.

So kommt es, dass die NMH vielerorts UFH im klinischen Alltag als Antikoagulans der Wahl abgelöst haben. Sie werden parenteral verabreicht und vor allem zur Thromboseprophylaxe, aber auch bei der Therapie von tiefer Venenthrombose (TVT), akuter Lungenembolie oder Myokardischämie eingesetzt (1, 16, 23, 24).

Trotz dieser vielfältigen Anwendungsmöglichkeiten und der relativ sicheren Wirkungsweise, weisen auch die NMH einige Beschränkungen auf.

Da bei NMH die renale Elimination dominiert, besteht bei Patienten mit verminderter Nierenfunktion die Gefahr der Akkumulation des Medikaments, wodurch es zu Blutungen kommen kann (1).

Hinzu kommt, dass die NMH-vermittelte gerinnungshemmende Wirkung nicht vollständig durch Protamin neutralisiert werden kann (24).

Um das Risiko einer Blutungskomplikation zu minimieren, ist daher in bestimmten Situationen eine Therapiekontrolle notwendig. Das American College of Chest Physicians (ACCP) empfiehlt in seinen aktuellen Leitlinien (10) ein Monitoring der NMH-Therapie bei adipösen Patienten, Schwangeren, Kindern und Niereninsuffizienten.

Hierbei ist die Bestimmung der anti-Faktor Xa-Aktivität (aXa) der Gold-Standard (10). Für diese Testmethode bestehen nach wie vor unklare Zielwerte, basierend auf den jeweiligen individuellen Risikofaktoren (25). Insbesondere bei der arteriellen Anwendung der NMH (z.B. bei perkutaner koronarer Intervention, PCI) fehlen hierzu bisher Daten (24).

### **2.1.2 Heparinoide**

Heparinoide sind Arzneistoffe, die eine ähnliche Wirkung wie Heparin aufweisen, aber einen anderen molekularen Aufbau haben.

Hierzu zählen z.B. Pentosanpolysulfat und Danaparoid, wobei nur Letzteres von Interesse für die vorliegende Studie ist.

### 2.1.2.1 Danaparoid

Das Medikament Danaparoid (Orgaran®) ist ein komplexes Gemisch aus unterschiedlichen Glukosaminoglykanen (Heparan-Sulfat, Dermatan-Sulfat, Chondroitin-Sulfat), das aus Schweinedarmmukosa gewonnen wird. Sein Molekulargewicht beträgt im Mittel etwa 6 kDa (3).

Die antikoagulatorische Wirkung von Danaparoid entfaltet sich, den NMH gleich, vorrangig über die Katalyse der AT-abhängigen Inhibierung von Faktor Xa. Das Verhältnis aXa/ aIIa ist größer als 28:1 (26).

Danaparoid wird parenteral verabreicht und bei der Behandlung von Patienten mit Kontraindikation für Heparin oder Heparin-induzierter Thrombozytopenie Typ II (HIT II) eingesetzt. Da das Präparat eine sehr geringe Bindungstendenz aufweist, kommt es kaum zur Interaktion mit thrombozyteneigenem Plättchenfaktor 4 (PF 4) und somit nicht zur Bildung von HIT II-Antigen (3).

Die geringe Bindung besteht allerdings auch bei Zellen, die an der Eliminierung über die Nieren beteiligt sind, woraus eine hohe Halbwertszeit von etwa 25 Stunden resultiert. Hinzu kommt, dass Danaparoid auch nicht an Protamin bindet, somit also kein Antidot zur Umkehr der gerinnungshemmenden Wirkung zur Verfügung steht (3).

Um die Sicherheit der Danaparoid-Behandlung zu gewährleisten, empfehlen Experten (10) die Überwachung des Wirkspiegels. Dies ist v.a. bei Adipositas, Niereninsuffizienz und der Behandlung von Kindern (27) anzuraten.

Die Methode der Wahl ist, wie auch bei den NMH, die aXa-Bestimmung. Hier muss jedoch die Kalibrierung mit Danaparoid durchgeführt werden und die Quantifizierung erfolgt in E/ml (28). Laut Angaben des Herstellers sollten die angestrebten aXa-Plasmaspiegel 0,8 E/ml nicht übersteigen (27).

## 2.2 Monitoring

Da der Effekt des Antikoagulans, die Verhinderung der Thrombusbildung, nicht direkt gemessen werden kann, dienen Ergebnisse von Gerinnungstests, wie z.B. die aPTT, als Surrogatparameter für die Messung von Thrombose oder Blutung (29).

Der Nutzen der in der vorliegenden Studie untersuchten Bestimmungsmethoden als Surrogat der Wirkung und Sicherheit des jeweiligen Antikoagulans soll im Folgenden näher beleuchtet werden.

### 2.2.1 Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT)

Zur Therapieüberwachung bei UFH-Gabe wird in der Literatur (10, 30, 31) die Bestimmung der aPTT empfohlen.

Dieses Verfahren beruht auf dem Prinzip, Citrat-Plasma durch die Zugabe eines Substrates aus Phospholipiden und oberflächenaktiven Substanzen mit Calcium gerinnen zu lassen (1). Die Zeit bis zur Gerinnselbildung wird gemessen und ist proportional zur Heparinkonzentration der Probe verlängert.

Die Aktivierung der Gerinnung erfolgt hier über Oberflächenaktivatoren (z.B. Kaolin) und, anders als bei der Thromboplastinzeit-Bestimmung (Prothrombinzeit, Quick-Test), über partielles Thromboplastin (z.B. Cephalin). Dies ist ein Phospholipid, das keinen Proteinanteil (tissue factor) besitzt. Daher der Name „aktivierte partielle Thromboplastinzeit“ (32).

Da sich mit diesem Test der intrinsische Teil des Gerinnungssystems (Faktoren XII, XI, IX, VIII) und die gemeinsame Endstrecke (Faktoren V, X, II) überprüfen lassen, wird die aPTT neben der Kontrolle gerinnungshemmender Therapien vor allem zur Diagnose von Gerinnungsstörungen benutzt. Besonders charakteristisch ist die pathologische Verlängerung der Gerinnungszeit bei angeborenen Blutungsdiathesen, wie z.B. Hämophilie A und B (Faktorenmangel VIII bzw. IX) (32).

Seit Jahrzehnten hat die aPTT ihre Vorrangstellung unter den Gerinnungstests nicht eingebüßt, da sie entscheidende Vorzüge besitzt: Dieser Test ist schnell und einfach durchzuführen, nicht teuer und weithin verfügbar (33).

Es bestehen jedoch einige Einschränkungen, die die Güte des Tests in Frage stellen.

Die aPTT reagiert als globaler Gerinnungstest stark auf Schwankungen der Gerinnungsfaktor-Levels, wie sie z.B. durch Operationen (34) oder Komedikation mit VKA (35) hervorgerufen werden können.

Auch präanalytische Variablen, wie die Zeit zwischen Blutentnahme und Auswertung oder die Lagerungstemperatur der Probe, können die Ergebnisse der aPTT-Messung beeinflussen (29).

Wie schon seit den späten 70ern in der Literatur (36) beschrieben, liefert die aPTT sehr variable Ergebnisse, je nach verwendetem Reagenz und Instrument (37–40). So berichten Langer und Ziemer (5) z.B., dass bei Ringversuchen in Deutschland bei einer heparinisierten Probe aPTT-Werte von 40 bis 140 Sekunden gemessen wurden.

Der therapeutische Zielbereich (1,5 bis 2,5-fach verlängerte Gerinnungszeit im Vergleich zur Kontrolle) ist weithin akzeptiert, jedoch wird die Validität dieser Werte und die damit verbundene Vorhersagbarkeit von Thrombose oder Blutung von vielen Autoren (33, 41) angezweifelt (42). Hirsh *et al.* (41) schlagen als Alternative zur Anwendung des bestehenden Zielbereiches die Messung von Heparin-Levels vor.

### **2.2.2 Anti-Faktor Xa-Aktivität (aXa)**

Da für die Überwachung der Therapie mit NMH und Danaparoid die geläufigen Gerinnungstests wie aPTT oder Prothrombinzeit nicht sensitiv genug sind, ist für diese Medikamente die Bestimmung der anti-Faktor Xa-Aktivität die Methode der Wahl (10).

Es gibt hierbei zwei Testprinzipien: ein chromogenes (enzymatisches) Verfahren und einen chronometrischen (gerinnungsbasierten) Test.

#### **a) Chronometrische aXa-Bestimmung**

Der Test beruht auf einem von Yin *et al.* (43) erarbeiteten Verfahren, bei dem während einer definierten Reaktionsdauer eine bestimmte Menge an zugesetztem FXa durch AT neutralisiert wird. Der nicht-neutralisierte Rest



startet die Gerinnung und die gemessene Gerinnungszeit ist proportional zur Heparinkonzentration der Probe.

Ein prominentes Beispiel für die Anwendung dieses Verfahrens ist der HEPTEST® (Haemachem, St. Louis, USA), dessen Reagenz auf Rinderplasma basiert, das eine große Menge an FV und Phospholipiden enthält (44).

b) Chromogene aXa-Bestimmung

Hierbei wird einer verdünnten Plasma-Probe ein definierter Überschuss an FXa zugesetzt, der durch das Heparin in der Probe in Anwesenheit von AT gehemmt wird. Der nicht-inhibierte Rest spaltet ein FXa-spezifisches chromogenes Substrat. Dabei wird ein Farbstoff freigesetzt, dessen Extinktion bei 405 nm gemessen wird. Das fotometrische Signal ist umgekehrt proportional zur Konzentration des Antikoagulans in der Probe (45).

Für die verschiedenen Substanzen (NMH oder Heparinoide) gibt es spezifische Kalibrationskurven, anhand derer man indirekt auf die Heparinaktivität in der Probe schließen kann (46).

Das chromogene Verfahren wird im Allgemeinen der Gerinnungsmethode vorgezogen, da es in internationalen Studien die kleinste Intra- und Inter-Labor-Variation der Ergebnisse aufweist (47).

Zudem lassen sich durch die auf chromogener Substrattechnologie beruhende Testmethode viele Störgrößen, wie z.B. Prothrombinspiegel, Fibrinogengehalt, ausschließen (28).

Im klinischen Alltag zählt die aXa-Bestimmung jedoch nicht zu den Routineverfahren der Gerinnungsprüfung.

Dies liegt zum Einen an der Tatsache, dass die aXa-Tests teuer, aufwendig durchzuführen und noch dazu in vielen Kliniken nicht verfügbar sind (3, 40, 48).

Bedeutender ist aber die geringe Vergleichbarkeit der kommerziell verfügbaren aXa-Tests, die seit Langem von vielen Experten (7, 40, 49, 50) bemängelt wird. Die ungenügende Standardisierung führt zu höchst unterschiedlichen Ergebnissen bei gleichen Proben.

Weiterhin wird die Aussagekraft des bestimmten aXa-Levels angezweifelt, da dieses zwar die gegenwärtige Konzentration des Antikoagulans repräsentiert, jedoch nicht notwendiger Weise die antithrombotische Wirkung voraussagt (48). So ist die Beziehung zwischen aXa-Level und klinischem Outcome nach wie vor unklar (15, 20, 51).

Zudem bilden die aXa-Testmethoden nicht die komplette gerinnungshemmende Wirkung der NMH ab, da hierzu auch andere Mechanismen (z.B. Freisetzung von tissue factor pathway inhibitor, TFPI) beizutragen scheinen (52).

Auch der Einfluss der NMH auf FIIa wird bei diesen Tests nicht hinreichend beachtet (53).

All diese Unzulänglichkeiten gewinnen zunehmend an Wichtigkeit, da der Einsatz der NMH gerade bei Patientengruppen, bei denen aufgrund mangelnder Erfahrung Monitoring sinnvoll ist, weiter ansteigt (3).

Umso aktueller ist die schon seit Jahren bestehende Debatte über den Nutzen und die Bedeutung der aXa-Tests zur Kontrolle der gerinnungshemmenden Therapie, auf die im Diskussionsteil der Arbeit ausführlich eingegangen wird.

Der Hauptkritikpunkt der Monitoring-Gegner besagt in erster Linie, dass die bestehenden Methoden aufgrund der genannten Einschränkungen hierfür nicht ausreichend geeignet sind. Sie liefern bestenfalls irreführende Ergebnisse, tragen jedoch nichts zur Verbesserung der Sicherheit und Effektivität bei (20, 54).

Die Entwicklung neuer Methoden, die die Nachteile der gängigen Verfahren ausräumen und somit eine zuverlässige und aussagekräftige Therapieüberwachung ermöglichen, ist daher umso wichtiger.

Harenberg *et al.* (30) machen die Forderung klar: „Ein globaler Gerinnungstest wird gebraucht, der die antikoagulatorische Wirkung der konventionellen wie auch der neuen Antikoagulantien bestimmt.“

Die Methode, die diesen Anspruch gegenwärtig als einzige erfüllt (55), ist die Prothrombinase-induzierte Gerinnungszeit (PiCT).

### 2.2.3 Prothrombinase-induzierte Gerinnungszeit (PiCT)

Verschiedene Studien haben gezeigt, dass das PiCT-Verfahren eine hohe Sensitivität und fast lineare Dosis-Wirkungs-Beziehung (9) für UFH, NMH (30) und auch DTI (35) aufweist. Somit ergibt sich die Möglichkeit des Monitorings von verschiedenen Medikamenten mit dem gleichen Test.

Diese neue Methode bildet den Effekt der Medikamente auf die „gemeinsame Endstrecke“ des plasmatischen Gerinnungssystems ab, und ist daher gerade zum Monitoring der in Entwicklung befindlichen neuen Gerinnungshemmer interessant, da diese überwiegend gegen FXa und FIIa gerichtet sind (56).

Das Testprinzip der PiCT beruht auf der Aktivierung der Gerinnung durch Zufügen einer definierten Menge an FXa, Phospholipiden und einem Enzym, das spezifisch FV aktiviert (Russel Viper Venom factor V activator, RVV-V). Während einer Inkubationszeit wird FXa von AT, abhängig von der Menge des anwesenden Heparins im Plasma, inhibiert. Durch Zugaben von Calcium lagern sich der aktive Rest des FXa, FVa und die Phospholipide zum Prothrombinasekomplex zusammen, Thrombin wird gebildet und es entsteht ein Fibringerinnsel. Die Gerinnungszeit wird gemessen und ist proportional zur Konzentration des Gerinnungshemmers in der Probe (9) (siehe Abb. 2).

Nach Kalibrierung der PiCT gegenüber dem NMH-Standard der WHO ist es möglich, die Messergebnisse in aXa-Einheiten auszudrücken (56).

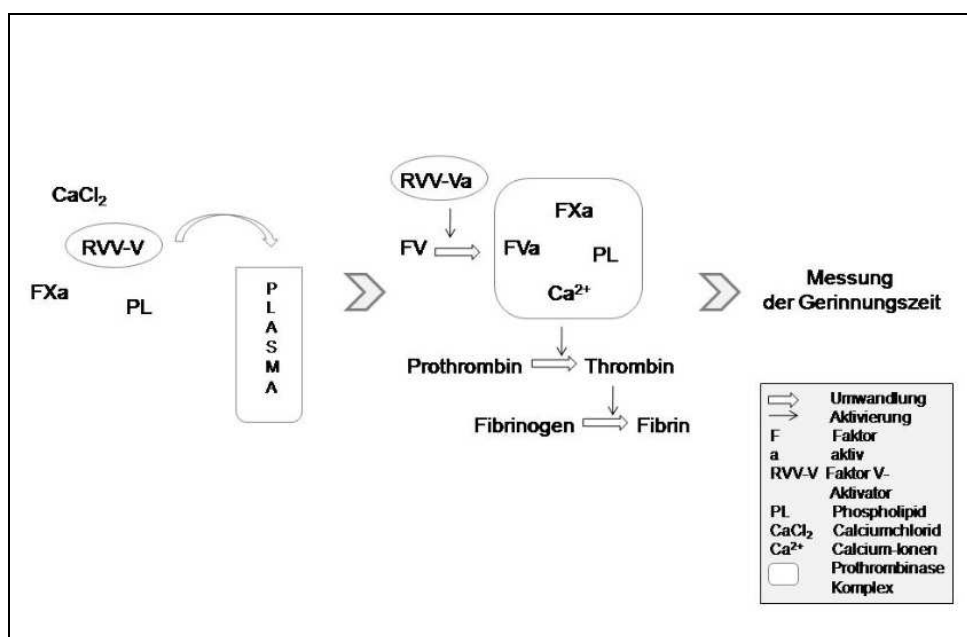


Abbildung 2: Reaktionsprinzip der PiCT, schematische Darstellung. Modifiziert nach (56).

Der Versuchsablauf kann laut Calatzis *et al.* (9) auf optischen und mechanischen Gerinnungs-Analysatoren vollzogen werden, und ist somit in jeder Laborroutine durchführbar.

Ein entscheidender Vorzug der PiCT ergibt sich mit dem Zusatz von RVV-V.

Durch den präaktivierten FV ist die enzymatische Aktivität von FXa massiv gesteigert und somit auch die Thrombinbildung beschleunigt. Diese erhöhte Geschwindigkeit der Prothrombinase-Aktivierung garantiert das kurze, klare und wiederholbare Einsetzen der Reaktion, wodurch die Signale, v.a. bei der optischen Messung, besser gelesen werden können. Dies vermindert Fehler im Testergebnis (57) und verleiht dieser neuen Methode große Präzision und hohe Sensitivität (9, 57).

Zudem wird die Gerinnungskaskade durch RVV-V auf niedriger Stufe aktiviert; PiCT ist dadurch unabhängig von der Anwesenheit FV-aktivierender Gerinnungsfaktoren (z.B. Thrombin, FVII) (30) und der FX-Konzentration in der Probe (56). Das macht den Test robust gegenüber Störfaktoren, wie z.B. die Veränderungen der Gerinnungsfaktor-Levels durch Komedikation mit VKA (35) oder während Operationen (50).

Somit ergibt sich eine bessere Reproduzierbarkeit und Linearität als bei Tests, die die Gerinnungskaskade auf früherer Stufe aktivieren (z.B. aPTT) (30, 50).

In das Messergebnis der PiCT fließt neben dem FXa-hemmenden Effekt des Antikoagulans auch die anti-Faktor IIa-Aktivität (aIIa) ein. Das Nichtbeachten der aIIa des jeweiligen NMH ist ein von Experten kritisierte(r) Nachteil der aXa-Tests (58). Zusammen mit der geringeren Verdünnung der Proben und dem weniger künstlichen Test-Milieu der PiCT (56) ergibt sich eine gesteigerte klinische Relevanz der Ergebnisse.

Jedoch fehlen zur Bestätigung dieser Relevanz gegenwärtig noch festgelegten Bereiche für Spitzen- und Talspiegel bei verschiedenen Medikamenten und Konzentrationen. Ebenso muss die klinische Vorhersagbarkeit des Tests hinsichtlich

Sicherheit und Wirkung der antikoagulatorischen Behandlung noch geprüft werden(56).

Jessen *et al.* kritisieren, dass zur klinischen Anwendung von PiCT bisher teures Equipment (8) und eine spezielle Handhabung der Proben (58) notwendig sind.

Ob dieses neue Verfahren die Nachteile der etablierten Methoden ausräumen kann und seine möglichen Vorteile gegenüber diesen im direkten Vergleich der Messwerte bei verschiedenen Medikamente und Risikogruppen bestehen können, wird im Weiteren untersucht.

## 3 Material und Methoden

### 3.1 Patientenauswahl

Im Zeitraum von Oktober 2006 bis November 2007 konnten 102 Patienten in die Studie eingeschlossen werden.

Die Kriterien für den Einschluss waren zum Einen die Behandlung mit einem der folgenden gerinnungshemmenden Medikamente:

- Heparin (z.B. Liquemin<sup>®</sup>, Roche Deutschland Holding AG, Grenzach-Wyhlen)
- Enoxaparin (Clexane<sup>®</sup>, sanofi-aventis Deutschland GmbH, Frankfurt)
- Dalteparin (Fragmin<sup>®</sup>, Fragmin P forte<sup>®</sup>, Pfizer Deutschland GmbH, Berlin)
- Danaparoid (Orgaran<sup>®</sup>, Essex Pharma GmbH, München)

Zum Anderen sollte bei diesen Patienten zur Therapiekontrolle einer der folgenden Gerinnungstests durchgeführt worden sein:

- Bestimmung der anti-Faktor Xa-Aktivität ( $\geq 0$  IE/ml)
- Bestimmung der aPTT ( $> 60$  sec)

Die Auswahl der Patienten erfolgte über die laborinterne Datenbank im Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

### 3.2 Datenerhebung

Durch Einsicht in die zentrale Labordatenbank wurden Alter, Geschlecht und Station ermittelt und folgende Laborwerte erhoben:

- aXa, aPTT, INR, Thrombozytenzahl als Gerinnungsparameter
- Kreatinin zur Berechnung der Nierenfunktion

Anschließend wurden aus der Patientenakte weitere Informationen über den Patienten eingeholt:

- Größe und Gewicht
- verabreichtes Antikoagulans mit Dosis und Applikationsart (s.c. oder i.v.)

Schwangere Patientinnen konnten über die Gerinnungssprechstunde von Prof. Dr. med. Dr. phil. nat. H. Schinzel identifiziert werden.

### 3.3 Probengewinnung

Es wurden geeignete Plasma-Proben von Patienten identifiziert, bei denen im Gerinnungslabor eine erste aXa-Bestimmung („aXa Behring“) vorgenommen wurde oder die aPTT >60 sec war. Die zugehörigen Proben wurden aus dem Bestand des Zentrallabors der Uniklinik Mainz entnommen.

Nach Abpipettieren von je 500µl Citrat-Plasma in 2 Eppendorf-Gefäße wurden die Proben für 10 min bei 14000 Umdrehungen (15°C) mit der Hettich Zentrifuge Mikro 200 R zentrifugiert. Dadurch setzten sich die im Plasma enthaltenen Thrombozyten ab und der Überstand an thrombozytenfreiem Plasma wurde in neue Gefäße umgefüllt.

Nach Einfrieren der Proben bei -80°C und einer Lagerzeit von 6 Monaten wurden die Proben mittels aXa-Test eines anderen Herstellers („aXa Biophen“) und PiCT in Kooperation mit der Firma Pentapharm, Basel, Schweiz erneut analysiert.

Die Messwerte dieser Bestimmungen bilden die Grundlage des vorliegenden Methodenvergleichs.

### 3.4 Gerinnungstests

Bei der Probenanalyse im Gerinnungslabor wurde durch verschiedene Methoden die gerinnungshemmende Aktivität des verabreichten Medikaments (UFH, NMH oder Heparinoid) bestimmt.

Insgesamt wurden für jede Plasma-Probe drei Messwerte erhoben: die anti-Faktor Xa-Aktivität mit zwei konventionellen Assays („aXa Behring“ und „aXa Biophen“) und dem neuen Verfahren PiCT.

Eine Ausnahme bilden die UFH-Proben, bei denen nur die zweite aXa-Messung („aXa Biophen“), PiCT und zusätzlich die aPTT-Bestimmung durchgeführt wurden.

Die folgenden Informationen zu den verwendeten Tests wurden der jeweiligen Produktinformation des Herstellers entnommen.

#### 3.4.1 Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT)

Zur Bestimmung der aPTT wurde das Reagenz Pathromtin® SL (Dade Behring GmbH, Marburg, Deutschland) verwendet.

Die ermittelten Werte wurden für UFH in [sec] angegeben.

Zusammensetzung: Pathromtin SL Reagenz 100 µl: Siliciumdioxid-Partikel, pflanzliche Phospholipide, Natriumchlorid (2,4 g/l), Hepes (13,4 g/l), pH 7,6, Konservierungsmittel (Natriumazid <1g/l)

Calciumchloridlösung: 0,025 mol/l

Probenmaterial: thrombozytenarmes Citratplasma

Testablauf: Inkubation von 100 µl Citratplasma mit 100µl Pathromtin SL Reagenz für 2 min bei 37°C. Durch den Oberflächenaktivator und die Phospholipide werden die Faktoren des endogenen Gerinnungssystems aktiviert. Ausgelöst wird der Gerinnungsvorgang durch die Zugabe von 100µl Calciumchlorid-Lösung. Die Zeit bis zur Fibringerinnungsbildung wird in ihrer Dauer koagulometrisch registriert.



### 3.4.2 Anti-Faktor Xa-Aktivität (aXa)

Die zur Messung der aXa verwendeten Methoden zweier verschiedener Hersteller beruhen beide auf dem Prinzip der chromogenen Bestimmung des FXa-Rests.

Die Ergebnisse wurden nach medikamentenspezifischer Kalibrationskurve in [IE/ml] angegeben.

a) Berichrom® Heparin (Dade Behring GmbH, Marburg, Deutschland)

Zusammensetzung: FXa-Reagenz 500 µl: Plasma-Fraktion, Tris 6 g/l, NaCl 12 g/l, EDTA 0,74 g/l, Dextransulfat-Reagenz 0,02 g/l 10ml, ATIII-Reagenz 1 IE/ml 50µl, chromogenes FXa-Substrat 4mmol/l 100µl

Probenmaterial: thrombozytenarmes Citratplasma.

Testablauf: Zur Probe wird Dextransulfat zugesetzt, welches an Störfaktoren gebundenes Heparin freisetzt und so das gesamte im Plasma befindliche Heparin der Bestimmung zugänglich macht.

Danach erfolgt die Inkubation von 50µl Citratplasma, 50µl AT-Reagenz und 500µl FXa-Reagenz für 1 min bei 37°C. Der Heparin-ATIII -Komplex inhibiert FXa. Dem nach dieser Phase in der Probe verbleibenden Anteil von FXa werden nun 100µl des chromogene Substrat-Reagenz zugesetzt, für 1 min bei 37°C inkubiert und die Reaktion dann durch Zugabe von 500µl 20%iger Essigsäure gestoppt. Die Extinktion wird bei 405 nm gemessen.

b) Biophen® Heparin 6 (HYPHEN BioMed, Neuville-sur-Oise, Frankreich)

Zusammensetzung: FXa-Reagenz 200µl, chromogenes FXa-Substrat (SXA-11) 200µl

Probenmaterial: thrombozytenarmes Citratplasma.

Testablauf: Inkubation von 30µl Citratplasma mit 200µl chromogenem Substrat-Reagenz für 2 min bei 37°C. Anschließend werden 200µl FXa-Reagenz zugegeben und die Probe wird weitere 90 sec bei 37°C inkubiert. Mit Zugabe von 500µl Zitronensäure wird die Reaktion gestoppt und die Farbentwicklung bei 405 nm gemessen.

### **3.4.3 Prothrombinase-induzierte Gerinnungszeit (PiCT)**

Das neue koagulometrische Verfahren PiCT wurde mit dem Pefakit® PiCT® (Pentapharm, Basel, Schweiz) durchgeführt.

Die Ergebnisse der Messungen wurden nach jeweiliger Kalibrierung für UFH in [sec] und für NMH und Danaparoid in [E/ml] angegeben.

Zusammensetzung: Gemisch aus FXa, Schlangengift RVV-V (35), Phospholipiden 50µl; CaCl<sub>2</sub> (25mM) 50µl (Typ und Konz der Phospholipide sind geschützte Infos des Herstellers)

Probenmaterial: thrombozytenarmes Citratplasma.

Testablauf: Zu 50µl Citratplasma werden 50µl des Reagenz (FXa, RVV-V, Phospholipide) zugegeben und das Gemisch anschließend 3 min bei 37°C inkubiert. Danach werden 50µl Calciumchlorid zugegeben und so durch die Bildung des Prothrombinasekomplexes die Blutgerinnung aktiviert und die Gerinnungszeit gemessen.

### 3.5 Datenanalyse

Die gesammelten Daten wurden mit Microsoft® Excel 2003 (Copyright© Microsoft Corporation) erfasst und mit Hilfe des Statistik-Programms SPSS für Windows (Version 15.0, Copyright© SPSS Inc., Chicago, USA) aufgearbeitet und ausgewertet.

Bei der statistischen Auswertung wurden die problemspezifischen Empfehlungen des Institutes für medizinische Biometrie, Epidemiologie und Informatik (IMBEI) der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz mit einbezogen.

Für die deskriptive Statistik wurden bei stetigen Variablen Mittelwert, Median, Standardabweichung, Minimum und Maximum bestimmt, bei kategorialen Variablen die absoluten und relativen Häufigkeiten.

Werte  $<0,2$  IE/ml bei der Testmethode aXa Behring wurden mit 0,19 IE/ml in die Analyse aufgenommen, in weiteren Analysen aber ausgeschlossen, da aXa Behring unter 0,2 IE/ml keine genauen Angaben des Wertes mehr durchführt.

Graphisch wurden stetige Variablen in Boxplots, Streudiagrammen und Bland-Altman Plots dargestellt, jeweils unter Ausschluss von Messwerten  $<0,2$  IE/ml für die Methode aXa Behring. Kategoriale Variablen wurden als Balkendiagramme abgebildet.

Die Grafiken wurden mit SPSS oder Excel, auf der Grundlage der mittels SPSS aufbereiteten Datenbasis, erzeugt.

Diagramme mit Regressionsgeraden nach dem Verfahren von Passing und Bablok und Bland-Altman Plots wurden mit Hilfe der Excel- Anwendung MedCalc.exe erstellt.

Die Korrelationskoeffizienten ( $r$ ) nach Pearson, Schnittpunkte mit der Y- Achse und Steigungen wurden mit SPSS berechnet.

## 3.6 Kollektivbeschreibung

### 3.6.1 Gesamtkollektiv

Das Gesamtkollektiv besteht aus 175 Proben von insgesamt 102 Patienten. Pro Patient wurde mindestens eine Messung durchgeführt, maximal 15 (siehe Tab. 1).

Anzahl Messungen	Anzahl Patienten
1	81
2	12
3	1
4	2
7	2
8	1
10	1
12	1
15	1

Tabelle 1: Häufigkeitsverteilung Messungen pro Patient

Bei der weiteren Beschreibung der Häufigkeitsverteilungen innerhalb des untersuchten Kollektivs wird ggf. zwischen einmaliger Messung (n=102) und allen untersuchten Messungen (n=175) unterschieden, um die Ergebnisse später besser beurteilen zu können. Ein Patient, der einen Anteil von 15 Proben (9%) am Gesamtkollektiv trägt, könnte das Bild sonst verzerrend beeinflussen.

Von den 102 Patienten sind 53 männlich (52%) und 49 weiblich (48%).

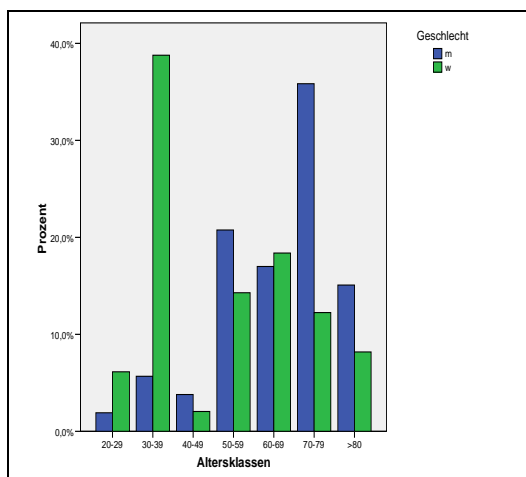


Abbildung 3 Häufigkeitsverteilung Geschlecht und Alter, Gesamtkollektiv

Das durchschnittliche Alter liegt bei 59 Jahren (Median 64 J.), der jüngste Patient war zum Zeitpunkt der Probengewinnung 20 Jahre und der Älteste 92 Jahre alt.

Die Frauen in der Altersklasse der 30- bis 40-Jährigen sind überhäufig vertreten (siehe Abb. 3), was dadurch zustande kommt, dass eine Gruppe schwangerer Patientinnen in die Untersuchung eingeschlossen wurde.

### 3.6.2 Medikamentengruppen

Um festzustellen, ob die zu vergleichenden Messmethoden unterschiedliche Ergebnisse liefern, je nachdem, welches Medikament verabreicht wurde, wurden die Proben des Gesamtkollektivs nach Medikamentengruppen aufgeteilt:

- Clexane

Medikament: Enoxaparin (Clexane®, sanofi-aventis Deutschland GmbH, Frankfurt)

Durchschnittliche Dosis und Applikationsart: 81,1 IE/kg KG, s.c.

- Fragmin

Medikament: Dalteparin (Fragmin®, Pfizer Deutschland GmbH, Berlin)

Durchschnittliche Dosis und Applikationsart: 8,5 IE/h/kg KG, i.v.

Dauerinfusion

- Fragmin P forte

Medikament: Dalteparin (Fragmin P forte®, Pfizer Deutschland GmbH, Berlin)

Durchschnittliche Dosis und Applikationsart: 63,7 IE/kg KG, s.c.

- Orgaran

Medikament: Danaparoid (Orgaran®, Essex Pharma GmbH, München)

Durchschnittliche Dosis und Applikationsart: 8,7 IE/kg KG, s.c. oder 5,3 E/h/kg KG, i.v. Dauerinfusion

- UFH

Medikament: unfraktioniertes Heparin (z.B. Liquemin®, Roche Deutschland Holding AG, Grenzach-Wyhlen)

Durchschnittliche Dosis und Applikationsart: 102,7 IE/kg KG, s.c. oder 67,1 IE/kg KG, i.v. oder 10,0 IE/h/kg KG, i.v. Dauerinfusion

Wie man in Tabelle 2 erkennen kann, so ist die Anzahl der Patienten pro Medikamentengruppe ähnlich, wobei Fragmin die kleinste Gruppe mit 15 Patienten und Orgaran und Fragmin P forte mit je 25 Patienten die stärksten Gruppen bilden.

Betrachtet man sich die Verteilung der Gesamtproben auf die

Medikamenten- gruppe	Anzahl Patienten (nur erste Messung)	Anzahl Proben (alle Messungen)
Clexane	16 (16%)	16 (9%)
Fragmin	15 (15%)	20 (11%)
Fragmin P forte	25 (24%)	30 (17%)
Orgaran	25 (24%)	88 (50%)
UFH	21 (21%)	21 (12%)

Tabelle 2: Häufigkeitsverteilung Patienten und Proben nach Medikamentengruppen

Medikamentengruppen, so ergibt sich ein inhomogenes Bild. Die Gruppe Orgaran stellt mit 88 Proben die Hälfte der Gesamtproben. Dies kommt daher, dass in dieser Gruppe

überwiegend Patienten sind, die Mehrfachmessungen erhalten haben.

Clexane bildet hier mit insgesamt 16 Proben die kleinste Untersuchungseinheit.

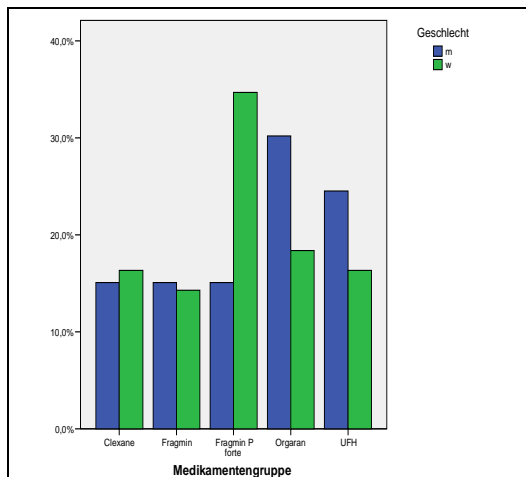


Abbildung 4: Häufigkeitsverteilung Geschlecht nach Medikamentengruppen

Die Geschlechtsverteilung (siehe Abb. 4) ist bei den Gruppen Clexane und Fragmin sehr ausgewogen mit etwa gleich vielen Männern und Frauen (je ca. 50%).

Ein Ungleichgewicht von etwa 2/3 Männern zu 1/3 Frauen besteht unter den Patienten, die die Medikamente Orgaran und UFH erhalten haben.

In der Gruppe Fragmin P forte findet sich der umgekehrte Fall mit 68% Frauen und 32%

Männern. Dies ergibt sich dadurch, dass die Gruppe hauptsächlich aus schwangeren Frauen besteht, die in der Vergangenheit schon mal eine Thrombose hatten und daher während der Schwangerschaft Fragmin P forte als Prophylaxe erhalten haben.

Das Alter ist zwischen den Gruppen unterschiedlich verteilt (siehe Abb. 5).

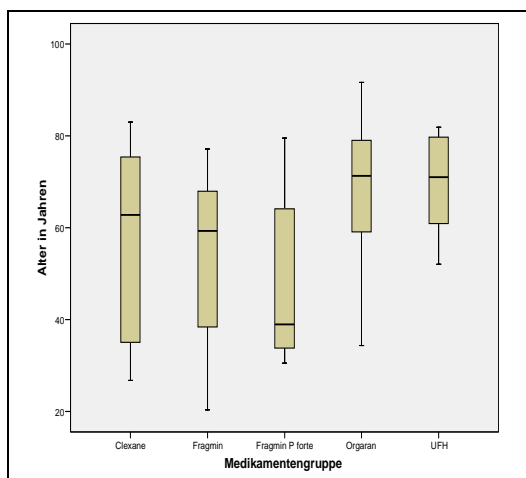


Abbildung 5: Häufigkeitsverteilung Alter nach Medikamentengruppen

In den Gruppen Clexane und Fragmin liegt es im Mittel bei etwa 60 Jahren (Median 63 J. bzw. 59 J.), erstreckt sich jedoch von 27 bis 83 Jahren bei Clexane und 20 bis 77 Jahren bei Fragmin.

Die Patienten der Gruppen Orgaran und UFH sind im Schnitt etwa 10 Jahre älter (Median jeweils 71 J.), bei mindestens 34 bzw. 52 Jahren und maximal 72 bzw. 82 Jahren.

Auch hier zeigt sich bei Fragmin P forte der Einfluss der schwangeren Frauen: Der Median liegt mit 39 Jahren deutlich unter dem der anderen Gruppen. Die Altersspanne reicht von 31 bis 79 Jahren.

### 3.6.3 Untergruppen

Seitens des Patienten können verschiedene gesicherte Einflussfaktoren die Pharmakokinetik des Antikoagulans im Körper und somit letztlich auch die aus dem Plasma ermittelten Messwerte verändern.

Daher wurden aus dem Gesamtkollektiv nochmals Untergruppen gebildet mit

- Proben von schwangeren Patientinnen
- Proben von Patienten mit Übergewicht (BMI >30 kg/m<sup>2</sup>)
- Proben von Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion (Niereninsuffizienz Stadium III-V)

Die Proben von Patienten, die keine der o.g. Merkmale aufweisen, wurden in der Gruppe „unselektiertes Kollektiv“ zusammengefasst.

#### 3.6.3.1 Schwangere

Insgesamt wurden 24 Proben von 19 schwangeren Patientinnen in die Untersuchung aufgenommen. Hiervon erhielten 16 Patientinnen Fragmin P forte und 3 Patientinnen Clexane. Aufgrund der geringen Fallzahl wurden die Clexane-Proben nicht in die Auswertung der Schwangeren eingeschlossen.

Somit besteht der Untersuchungsgegenstand der Gruppe „Schwangere“ aus 21 Proben von 16 Patientinnen, die alle mit Fragmin P forte behandelt wurden.

Die Frauen waren im Durchschnitt etwa 36 Jahre alt (Median 35 J.), wobei das Alter der jüngsten Patientin 31 Jahre und das der Ältesten 40 Jahre beträgt.

#### 3.6.3.2 Adipöse

Aus dem Gesamtkollektiv konnten übergewichtige Patienten mit Hilfe des Body-Mass-Index (BMI) identifiziert werden. Dieser Index relativiert die durch individuelle Körpergröße bedingten Unterschiede des Gewichts. Er stammt aus Beobachtungsstudien und berechnet sich aus dem Körpergewicht in kg und der quadrierten Körpergröße in m<sup>2</sup>. Ab einem BMI >30 kg/m<sup>2</sup> spricht man von Adipositas (59).

So wurden in die Gruppe Adipöse 34 Proben von 30 Patienten aufgenommen, bei denen der BMI >30 kg/m<sup>2</sup> betrug. Eine Einteilung in die verschiedenen Grade der Adipositas erfolgte nicht.

Die Fälle verteilen sich, wie in Tabelle 3 abgebildet, teilweise mit sehr kleiner Anzahl

Medikamenten- gruppe	Anzahl Patienten (nur erste Messung)	Anzahl Proben (alle Messungen)
Clexane	8 (27%)	8 (23%)
Fragmin	4 (13%)	5 (15%)
Fragmin P forte	9 (30%)	12 (35%)
Orgaran	3 (10%)	3 (9%)
UFH	6 (20%)	6 (18%)

Tabelle 3: Häufigkeitsverteilung Patienten und Proben nach Medikamentengruppen, Adipöse

auf die Medikamentengruppen.

Daher wurden Clexane, Fragmin und

Fragmin P forte als

„niedermolekulare Heparine“ (NMH)

mit insgesamt 25 Proben

zusammengefasst. Die Orgaran-Proben wurde bei der Auswertung nicht mit einbezogen, da nur für 3 Patienten Informationen zu Körpergewicht und -größe vorlagen. Die Gruppe UFH wurde mit ihren 6 Proben einzeln betrachtet.

Die betrachtete Untergruppe Adipöse beinhaltet somit Proben von 16 Männern (59%) und 11 Frauen (41%).

Die Altersverteilung erstreckt sich von 27 bis 83 Jahre; das mittlere Alter liegt bei etwa 57 Jahren (Median 59 J.).

### 3.6.3.3 Niereninsuffiziente

Zur Ermittlung der Patienten mit reduzierter Nierenfunktion wurde die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) mittels MDRD-Formel berechnet. Diese Formel bestimmt die GFR, bezogen auf die Körperoberfläche. Sie wurde aus den Kreatinin-Werten einer Gruppe nichtstationärer Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz abgeleitet (32).

MDRD1 (für GFR <60 ml/min) (60):

$$\text{GFR [ml/min*1,73 m}^2\text{]} = 186 * \text{Krea}^{-1,54} * \text{Alter}^{-0,203} (*0,742 \text{ bei Frauen})$$

MDRD3 (für GFR >60 ml/min):

$$\text{GFR [ml/min*1,73 m}^2\text{]} = 186 * \text{Krea}^{-0,49} * \text{Alter}^{-0,192} (*0,923 \text{ bei Frauen})$$



Einen Überblick über die im Gesamtkollektiv vertretenen Schweregrade der

Stadium	GFR [ml/min]	Anzahl Patienten (nur erste Messung)	Anzahl Proben (alle Messungen)
0-I	≥90	58 (57%)	79 (45%)
II	60-89	31 (30%)	48 (27%)
III	30-59	2 (2%)	6 (3%)
IV-V	<30	11 (11%)	42 (24%)

Tabelle 4: Häufigkeitsverteilung Patienten und Proben nach Stadium der Niereninsuffizienz

Niereninsuffizienz nach der Einteilung der National Kidney Foundation (NKF) (18) gibt Tabelle 4.

In der Gruppe Niereninsuffiziente wurden 48 Proben von 13 Patienten mit mittelschwerer bis vollständiger Niereninsuffizienz (Grad III-V, GFR <60 ml/min) betrachtet. Von den 13 Patienten erhielten 8 Orgaran, 3 UFH und je einer Fragmin

Medikamenten-gruppe	Anzahl Patienten (nur erste Messung)	Anzahl Proben (alle Messungen)
Clexane	0 (0%)	0 (0%)
Fragmin	1 (8%)	1 (2%)
Fragmin P forte	1 (8%)	1 (2%)
Orgaran	8 (61%)	43 (90%)
UFH	3 (23%)	3 (6%)

Tabelle 5: Häufigkeitsverteilung Patienten und Proben nach Medikamentengruppen, Niereninsuffiziente

bzw. Fragmin P forte (siehe Tab. 5). Wegen zu geringer Fallzahl wurden im Weiteren nur die 43 Orgaran-Proben beachtet.

Die Geschlechts- und Altersverteilung der betrachteten Fälle gestaltet sich wie folgt: 5 Männer (63%) und 3 Frauen (37%) mit einem Durchschnittsalter von 67 Jahren (Median 70 J., Min. 39 J., Max. 84 J.).

### 3.6.3.4 Unselektiertes Kollektiv

In dieser Untergruppe wurden 41 Proben von 36 Patienten zusammengefasst, die weder schwanger, noch adipös, noch niereninsuffizient sind.

Wie Tabelle 6 zeigt, sind auch hier die Proben ungleichmäßig auf die Medikamentengruppen verteilt. Da nur 3 Proben von mit Orgaran behandelten

Medikamenten-gruppe	Anzahl Patienten (nur erste Messung)	Anzahl Proben (alle Messungen)
Clexane	7 (19%)	7 (17%)
Fragmin	11 (31%)	15 (37%)
Fragmin P forte	4 (11%)	4 (10%)
Orgaran	2 (6%)	3 (7%)
UFH	12 (33%)	12 (29%)

Tabelle 6: Häufigkeitsverteilung Patienten und Proben nach Medikamentengruppen, unselektiertes Kollektiv

Patienten vorlagen, wurden diese nicht berücksichtigt. Wie schon bei der Gruppe Adipöse, wurden auch hier die NMH zusammengefasst (26 Proben), und UFH (12 Proben)

eigenständig betrachtet.

Somit besteht die untersuchte Gruppe aus 19 Männern (56%) und 15 Frauen (44%), welche im Durchschnitt 62 Jahre alt sind (Median 66 J.). Die Altersverteilung erstreckt sich hier von 20 bis 82 Jahre.

#### **3.6.4 Überschneidungen**

Es wird darauf hingewiesen, dass zwischen den einzelnen Untergruppen mehrere Überschneidungen bestehen, es jedoch keinen Patienten gibt, der gleichzeitig allen drei Gruppen angehört.

Bei den Gruppen Adipöse und Niereninsuffiziente gibt es eine Überschneidung, wobei dieser Patient Fragmin erhalten hat und somit beim späteren Methodenvergleich der Gruppe Adipöse, jedoch nicht bei den niereninsuffizienten Patienten mit betrachtet wurde. Bei 8 niereninsuffizienten Patienten ist der BMI nicht bekannt.

Weiter besteht eine Überschneidung von 7 Patientinnen, die schwanger und adipös sind. Hierbei ist darauf hinzuweisen, dass das Gewicht vor der Schwangerschaft nicht bekannt ist und somit keine Adipositas, sondern lediglich eine Gewichtszunahme im Rahmen der Schwangerschaft vorliegen könnte. 2 der 7 Patientinnen haben Clexane erhalten und werden somit nur bei der Gruppe Adipöse und nicht bei Schwangere mit betrachtet.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Gesamtkollektiv

Gegenstand des Vergleichs sind im Folgenden die Messergebnisse der beiden aXa-Methoden und PiCT. Es werden die Proben des Gesamtkollektivs unter Ausschluss der Medikamentengruppe UFH betrachtet, da für diese zum Einen die Bestimmung der aPTT Methode der Wahl ist und zum Anderen keine Messwerte für aXa Behring vorliegen.

Beim Vergleich der Ergebnisse der einzelnen Methoden finden sich insgesamt Messwerte von 0,00 bis 1,36 IE/ml. Der Median liegt zwischen 0,21 und 0,53 IE/ml.

Es lässt sich erkennen, dass die beiden aXa-Methoden insgesamt höhere Werte messen als PiCT. Hierbei liefert aXa Behring die höchsten Ergebnisse (siehe Tab. 7, Abb. 6 und 7).

Die beiden vom Messprinzip gleichen Bestimmungsmethoden aXa Behring und aXa Biophen liefern mit einem Korrelationskoeffizienten  $r$  von 0,86 die ähnlichsten Messwerte. Die maximale Differenz beträgt 0,61 IE/ml (Spannweite 0,93 IE/ml). AXa Behring misst überwiegend die höheren Ergebnisse: Die Mehrzahl der Werte liegt in Abbildung 7 unter der Winkelhalbierenden.

Auch bei aXa Biophen-PiCT zeigt sich eine starke Korrelation der Methoden ( $r=0,66$ ). Die max. Differenz beträgt 0,78 IE/ml (Spannweite 1,20 IE/ml). Im zugehörigen Streudiagramm kann man eine starke Streuung um die Winkelhalbierende sehen. Im Bland-Altman Plot ist erkennbar, dass im Bereich von kleinen Konzentrationen PiCT etwa gleiche oder sogar höhere Werte misst als aXa Biophen.

Zwischen den Ergebnissen von aXa Behring und PiCT bestehen die größten Unterschiede: Die Übereinstimmung ist schwach ( $r=0,40$ ). Hier beträgt die Spannweite der Differenzen 1,38 IE/ml (Min. -0,37, Max. 1,01 IE/ml). In Abbildung 7 lässt sich erkennen, dass aXa Behring fast in allen Fällen die höheren Werte misst. Auch hier liegen die Messwerte deutlich unter der Winkelhalbierenden.

Zudem ist insgesamt der Trend erkennbar, dass die Differenzen umso größer werden, je größer die Messwerte werden (siehe BAPs Abb. 7).

Eine detaillierte Aufstellung der gemessenen Werte gibt die folgende Tabelle.

	Messmethode [Einheit]	Messung (Fallzahl)	Mittelwert	Median	Standardabweichung	Minimum	Maximum	
Rohwerte	aXa Behring [IE/ml]	erste (n= 81)	0,44	0,40	0,23	0,19	1,18	
		erste korrigiert (n= 61)	0,52	0,48	0,21	0,22	1,18	
		alle (n=154)	0,49	0,46	0,24	0,19	1,36	
		alle korrigiert (n= 132)	0,54	0,53	0,22	0,20	1,36	
	aXa Biophen [IE/ml]	erste	0,34	0,29	0,29	0,00	1,20	
		alle	0,39	0,38	0,27	0,00	1,20	
	PiCT [IE/ml]	erste	0,27	0,26	0,20	0,00	1,13	
		alle	0,25	0,21	0,16	0,00	1,13	
	Differenzen	aXa Behring-aXa Biophen [IE/ml]	erste	0,10	0,11	0,13	-0,32	0,61
			alle	0,10	0,10	0,12	-0,32	0,61
erste korrigiert			0,08	0,09	0,15	-0,32	0,61	
alle korrigiert			0,09	0,09	0,12	-0,32	0,61	
aXa Behring-PiCT [IE/ml]		erste	0,17	0,14	0,18	-0,37	0,76	
		alle	0,24	0,21	0,21	-0,37	1,01	
		erste korrigiert	0,19	0,19	0,20	-0,37	0,76	
		alle korrigiert	0,27	0,24	0,21	-0,37	1,00	
aXa Biophen-PiCT [IE/ml]		erste	0,07	0,04	0,19	-0,42	0,78	
		alle	0,14	0,13	0,20	-0,42	0,78	

Tabelle 7: Rohwerte und Differenzen der verschiedenen Messmethoden bei unterschiedlicher Fallzahl, Gesamtkollektiv.  
Legende: korrigiert = Ausschluss des Wertes 0,19 IE/ml für aXa Behring.

## Darstellung der Ergebnisse in Boxplots:

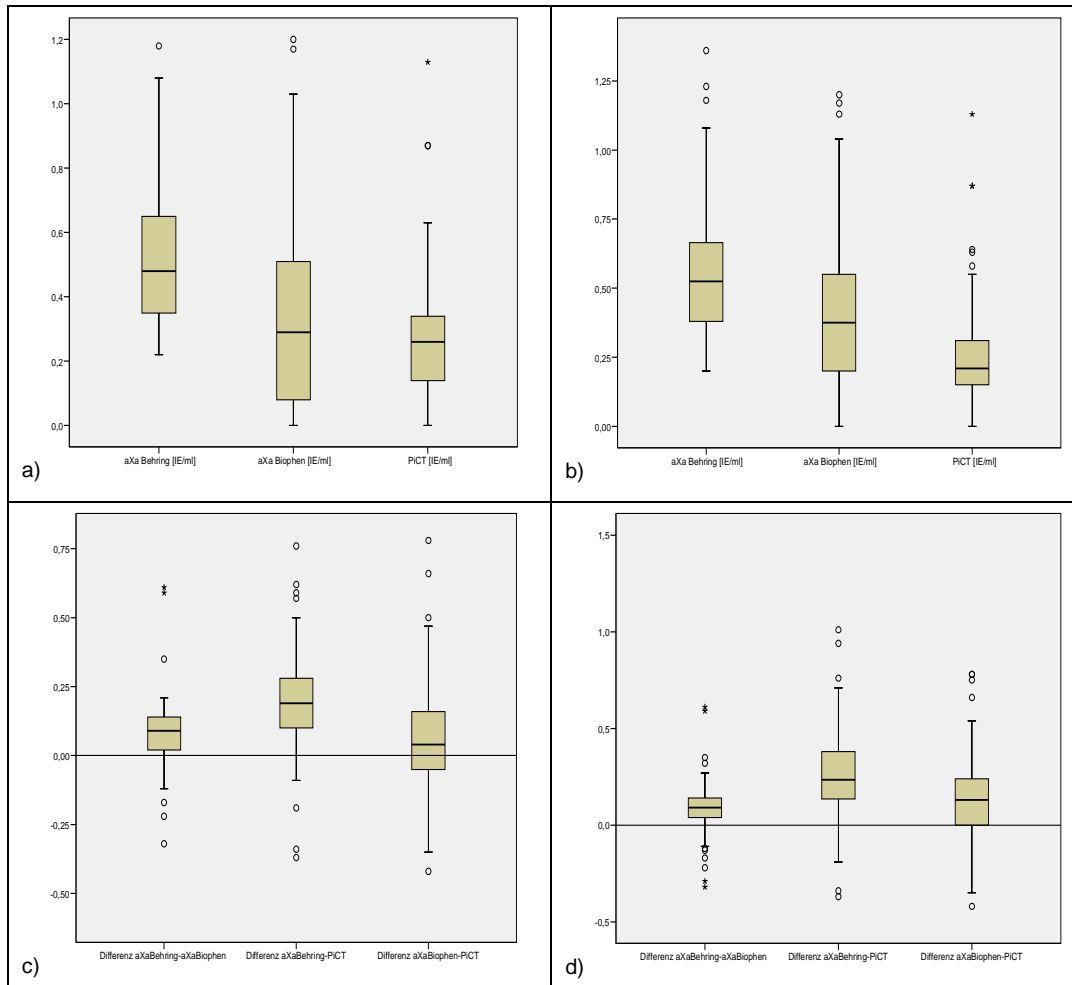


Abbildung 6: Darstellung der Rohwerte und Differenzen in Boxplots, Gesamtkollektiv.  
 Legende: a) Rohwerte erste Messung b) Rohwerte alle Messungen c) Differenzen erste  
 Messung d) Differenzen alle Messungen

## Darstellung der Ergebnisse in Streudiagrammen:

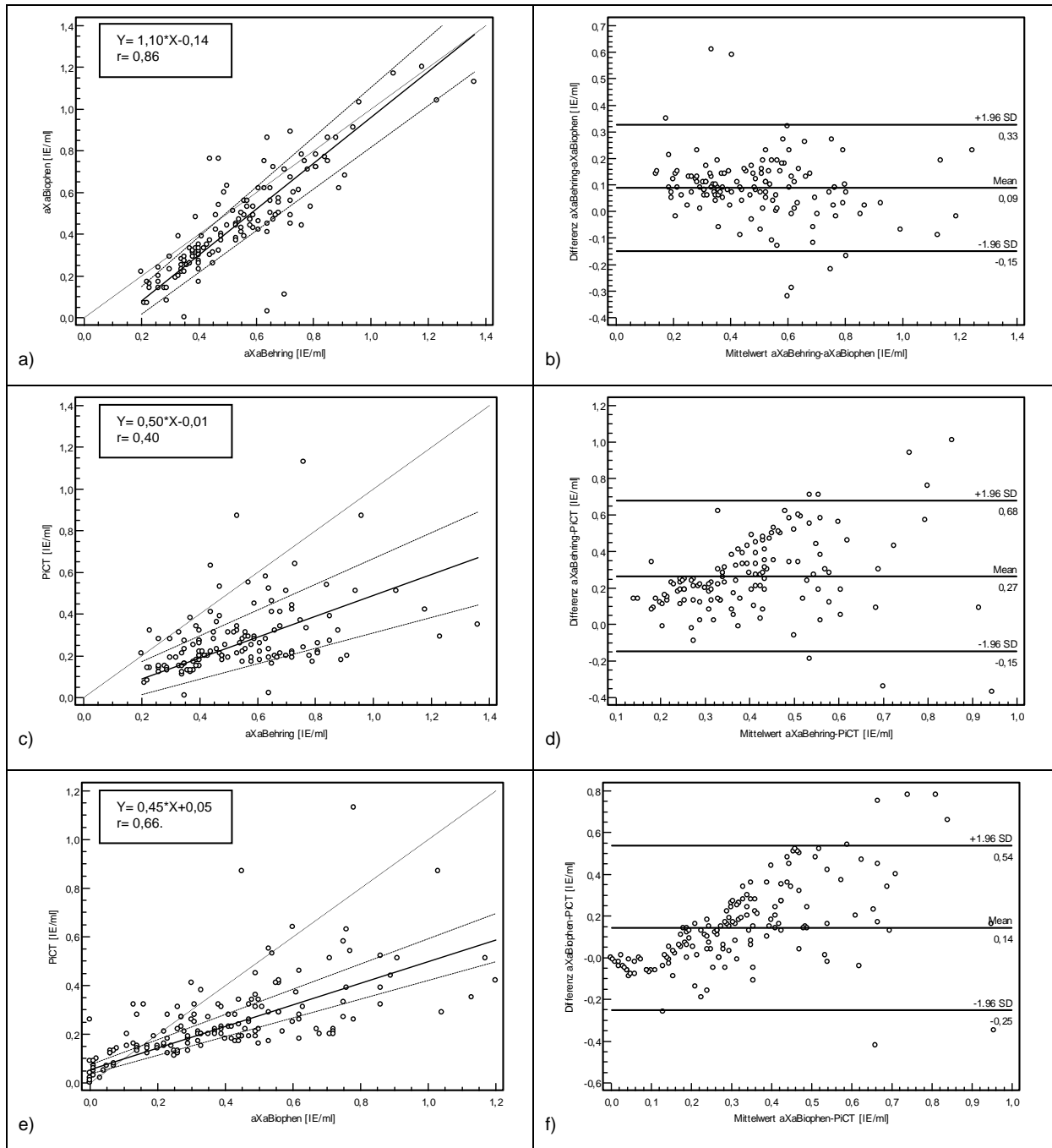


Abbildung 7: Darstellung der Messwerte in Streudiagrammen, Gesamtkollektiv.  
 Legende: Links Passing-Bablok Regression mit Winkelhalbierender, Regressionsgerade und Konfidenzintervallen. Rechts Bland-Altman Plots.  
 a) und b) aXa Behring-aXa Biophen, c) und d) aXa Behring-PICT, e) und f) aXa Biophen-PICT

## 4.2 Medikamentengruppen

Nachfolgend werden zu jeder Medikamentengruppe die Messwerte der einzelnen Bestimmungsmethoden im Vergleich dargestellt.

In Tabelle 8 sind die Ergebnisse der einzelnen Messungen mit entsprechenden Fallzahlen zu jeder Gruppe detailliert aufgeführt.

### 4.2.1 Clexane

Für die Gruppe Clexane liegen die gemessenen Werte insgesamt zwischen 0,00 und 1,20 IE/ml (Median min. 0,4 bis max. 0,70 IE/ml). Die Methoden aXa Behring und aXa Biophen liefern ähnliche Ergebnisse und PiCT hat niedrigere Werte.

Bei den Methoden aXa Behring-aXa Biophen besteht eine fast vollständige Übereinstimmung ( $r= 0,98$ ), was sich in der geringen Streuung der Werte in Abbildung 9 widerspiegelt. Im BAP lässt sich erkennen, dass bei niedrigen Plasmaspiegeln aXa Behring höhere Werte misst als aXa Biophen und sich dieses Verhältnis mit zunehmender Konzentration umkehrt.

Beim Paar aXa Behring-PiCT misst die aXa-Methode in allen Fällen höher als PiCT: Alle Werte liegen unterhalb der Winkelhalbierenden (siehe Abb. 9). Die Übereinstimmung ist dennoch stark mit  $r= 0,76$ . Im BAP kann man eine deutliche Zunahme der Differenzen mit steigender Konzentration der anti-Faktor Xa-Aktivität erkennen.

Dieser Trend zeigt sich in noch stärkerer Ausprägung beim Vergleich von aXa Biophen und PiCT. Die Korrelation ist bei diesem Paar fast vollständig ( $r= 0,82$ ).

### 4.2.2 Fragmin

Die Ergebnisse der Messungen mit den drei verschiedenen Methoden in der Gruppe Fragmin liegen insgesamt zwischen 0,11 und 1,13 IE/ml (Median min. 0,32 IE/ml, max. 0,46 IE/ml).

Man sieht annähernd gleiche Werte bei aXa Biophen und PiCT. Die Methode aXa Behring liefert im Vergleich deutlich höhere Messwerte.

Das Paar aXa Behring-aXa Biophen zeigt eine deutliche Übereinstimmung mit einem Korrelationskoeffizienten  $r$  von 0,58.

Gleichsinnig zeigt sich die Korrelation beim Vergleich von aXa Behring und PiCT:  $r=0,54$ . In Abbildung 10 zeigt sich eine deutliche Streuung der Werte, wobei die Mehrzahl unter der Winkelhalbierenden liegt. Auch hier liefert aXa Behring die höheren Werte. Im BAP lässt sich jedoch ablesen, dass bei höheren Plasmaspiegeln PiCT höher misst.

Bei aXa Biophen-PiCT ist die Übereinstimmung stark mit einem Korrelationskoeffizienten  $r$  von 0,80. Dies lässt sich auch in Abbildung 10 sehen, in der die Regressionsgerade fast mit der Winkelhalbierenden übereinstimmt. Man kann zwei Ausreißer erkennen.

#### 4.2.3 Fragmin P forte

Auch bei den Messwerten von Patienten, die mit Fragmin P forte behandelt wurden, zeigt sich eine gute Übereinstimmung zwischen aXa Biophen und PiCT. Im Vergleich misst aXa Behring auch hier die größten Werte.

Genau betrachtet ergeben sich insgesamt Messwerte von 0,00 bis 0,56 IE/ml (Median min. 0,07 IE/ml, max. 0,38 IE/ml). AXa Behring misst hier überwiegend höhere Werte als aXa Biophen. (siehe Abb. 11). Die Verfahren zeigen eine fast vollständige Übereinstimmung ( $r=0,83$ ).

Anders stellen sich die Ergebnisse bei aXa Behring-PiCT dar. Die Übereinstimmung ist nur schwach ( $r=0,40$ ). Die Mehrzahl der Werte liegt in Abbildung 11 unter der Winkelhalbierenden und zeigt eine breite Streuung. Im BAP lässt sich eine Tendenz zu höheren Differenzen mit zunehmender Plasmakonzentration der anti-Faktor Xa-Aktivität erkennen.

Das Paar aXa Biophen- PiCT hingegen zeigt wieder eine starke Korrelation ( $r=0,78$ ). Hier misst PiCT im Bereich von niedrigen Konzentrationen höhere Werte als aXa Biophen, was sich dann bei höheren Konzentrationen umkehrt. Abgesehen von drei Ausreißern streuen die Werte wenig.



#### 4.2.4 Orgaran

Insgesamt liegen die gemessenen Werte in der Gruppe Orgaran zwischen 0,00 und 1,36 E/ml (Median min. 0,20 E/ml, max. 0,55 E/ml).

Weiterhin liefert aXa Behring die größten Messwerte. Bei PiCT sind alle Werte im Schnitt etwa 50% kleiner als bei den anderen Methoden.

Betrachtet man die einzelnen Verfahren im Vergleich, so zeigt sich bei aXa Behring und aXa Biophen insgesamt eine geringe Streuung der Werte und die Verfahren stimmen fast vollständig überein ( $r= 0,85$ ) (siehe Abb. 12).

Auch bei dieser Medikamentengruppe korrelieren aXa Behring und PiCT deutlich ( $r= 0,44$ ), jedoch weniger als die anderen Paare. AXa Behring misst in allen Fällen höher als PiCT: Alle Werte liegen unter der Winkelhalbierenden. Im BAP lässt sich ein deutlicher Trend zu höheren Abweichungen mit zunehmender Konzentration ablesen.

Beim Vergleich von aXa Biophen und PiCT ist diese Tendenz noch stärker ausgeprägt (siehe Abb. 12). Auch lässt sich erkennen, dass PiCT im Bereich von niedrigen Konzentrationen höhere Werte misst als aXa Biophen. Dies kehrt sich mit zunehmender Konzentration um. Die beiden Verfahren stimmen stark überein ( $r= 0,72$ ).

#### 4.2.5 UFH

Beim Vergleich der Messwerte der einzelnen Methoden dieser Gruppe muss man beachten, dass hier standardmäßig ein anders Verfahren als bisher zum Einsatz kommt: die Messung der aPTT.

Die Messwerte beim Vergleich von aPTT und PiCT erstrecken sich insgesamt von min. 24,0 sec bis max. 193,9 sec. In Abbildung 13 erkennt man im niedrigen Konzentrationsbereich höhere Werte bei aPTT und mit steigender Plasmakonzentration höhere Werte bei PiCT. Die beiden Verfahren weisen eine fast vollständige Übereinstimmung der gemessenen Werte ( $r= 0,87$ ) auf.

Interessanter Weise misst PiCT hier überwiegend größere Werte als die aXa-Methode (siehe Abb. 13). Die Regressionsgerade liegt aber fast auf der Winkelhalbierenden und die Verfahren haben einen Korrelationskoeffizienten von  $r=$

0,93. Auch hier zeigt sich im BAP eine Tendenz zu größeren Abweichungen mit steigender Konzentration der anti-Faktor Xa-Aktivität im Plasma.

Medikamenten- gruppe	Messmethode [Einheit]	Messung (Fallzahl)	Mittelwert	Median	Standard- abweichung	Minimum	Maximum			
Clexane	Rohwerte	aXa Behring [IE/ml]	erste/alle (n=16)	0,64	0,68	0,31	0,19	1,18		
			erste/alle korrigiert (n= 15)	0,67	0,70	0,30	0,23	1,18		
		aXa Biophen [IE/ml]	erste/alle	0,60	0,62	0,38	0,00	1,20		
		PiCT [IE/ml]	erste/alle	0,37	0,40	0,21	0,00	0,87		
	Differenzen	aXa Behring- aXa Biophen [IE/ml]	erste/alle	0,04	0,07	0,10	-0,17	0,19		
			erste/alle korrigiert	0,03	0,06	0,09	-0,17	0,14		
		aXa Behring- PiCT [IE/ml]	erste/alle	0,27	0,20	0,19	0,08	0,76		
			erste/alle korrigiert	0,27	0,21	0,20	0,08	0,76		
		aXa Biophen- PiCT [IE/ml]	erste/alle	0,23	0,16	0,24	-0,01	0,78		
		Fragmin	Rohwerte	aXa Behring [IE/ml]	erste (n= 15)	0,50	0,45	0,15	0,30	0,76
alle (n= 20)	0,50				0,46	0,16	0,20	0,76		
aXa Biophen [IE/ml]	erste			0,41	0,35	0,22	0,11	0,78		
	alle			0,42	0,37	0,20	0,11	0,78		
PiCT [IE/ml]	erste			0,43	0,32	0,27	0,18	1,13		
	alle			0,43	0,33	0,25	0,18	1,13		
Differenzen	aXa Behring- aXa Biophen [IE/ml]		erste	0,09	0,09	0,20	-0,32	0,59		
			alle	0,08	0,09	0,17	-0,32	0,59		
	aXa Behring- PiCT [IE/ml]		erste	0,06	0,13	0,23	-0,37	0,50		
			alle	0,07	0,09	0,21	-0,37	0,50		
	aXa Biophen- PiCT [IE/ml]		erste	-0,02	0,00	0,17	-0,42	0,17		
			alle	-0,01	0,00	0,15	-0,42	0,17		
	Fragmin P forte		Rohwerte	aXa Behring [IE/ml]	erste (n=25)	0,27	0,19	0,13	0,19	0,56
					erste korrigiert (n= 10)	0,39	0,36	0,12	0,23	0,56
alle (n=30)		0,27			0,19	0,12	0,19	0,56		
alle korrigiert (n= 13)		0,38			0,38	0,12	0,21	0,56		
aXa Biophen [IE/ml]		erste		0,15	0,07	0,17	0,00	0,49		
		alle		0,15	0,07	0,16	0,00	0,49		
PiCT [IE/ml]		erste		0,18	0,14	0,11	0,00	0,34		
		alle		0,17	0,14	0,11	0,00	0,34		
Differenzen		aXa Behring- aXa Biophen [IE/ml]	erste	0,12	0,13	0,07	-0,09	0,21		
			erste korrigiert	0,08	0,10	0,09	-0,09	0,21		
	alle		0,12	0,13	0,07	-0,09	0,21			

			alle korrigiert	0,08	0,09	0,08	-0,09	0,21		
			erste	0,09	0,10	0,10	-0,13	0,33		
		aXa Behring-PiCT [IE/ml]	erste korrigiert	erste	0,12	0,15	0,13	-0,09	0,33	
				alle	0,10	0,12	0,10	-0,13	0,33	
			alle korrigiert	erste	0,13	0,14	0,12	-0,09	0,33	
				alle	0,10	0,12	0,10	-0,13	0,33	
		aXa Biophen-PiCT [IE/ml]	erste	-0,03	-0,06	0,11	-0,26	0,18		
			alle	-0,02	-0,04	0,10	-0,26	0,18		
		Organan	Rohwerte	aXa Behring [E/ml]	erste (n=25)	0,45	0,47	0,18	0,19	0,81
					erste korrigiert (n= 21)	0,50	0,52	0,15	0,22	0,81
alle (n= 88)	0,54				0,53	0,22	0,19	1,36		
alle korrigiert (n= 84)	0,56				0,55	0,21	0,22	1,36		
aXa Biophen [E/ml]	erste			0,33	0,37	0,24	0,00	0,86		
	alle			0,44	0,43	0,23	0,00	1,13		
PiCT [E/ml]	erste			0,21	0,21	0,13	0,01	0,52		
	alle			0,22	0,20	0,10	0,01	0,52		
Differenzen	aXa Behring-aXa Biophen [E/ml]			erste	0,12	0,13	0,14	-0,22	0,61	
				erste korrigiert	0,12	0,11	0,16	-0,22	0,61	
			alle	0,10	0,10	0,11	-0,29	0,61		
			alle korrigiert	0,10	0,10	0,12	-0,29	0,61		
	aXa Behring-PiCT [E/ml]		erste	0,24	0,21	0,15	0,03	0,62		
			erste korrigiert	0,26	0,27	0,15	0,03	0,62		
			alle	0,32	0,28	0,19	0,03	1,01		
			alle korrigiert	0,33	0,28	0,19	0,03	1,01		
	aXa Biophen-PiCT [E/ml]		erste	0,12	0,13	0,15	-0,11	0,50		
			alle	0,22	0,19	0,18	-0,11	0,78		
UFH	Rohwerte		aPTT [sec]	erste/alle (n= 21)	90,4	86,0	21,9	60,5	121,0	
			PiCT [sec]	erste/alle	94,2	84,4	42,96	24,0	193,9	
		aXa Biophen [IE/ml]	erste/alle	0,51	0,39	0,41	0,00	1,79		
		PiCT [IE/ml]	erste/alle	0,54	0,43	0,37	0,02	1,49		
	Differenzen	aPTT-PiCT [sec]	erste/alle	-3,9	-1,5	26,2	-72,9	36,5		
		aXa Biophen-PiCT [IE/ml]	erste/alle	-0,03	-0,03	0,153	-0,37	0,30		

Tabelle 8: Rohwerte und Differenzen der verschiedenen Messmethoden bei unterschiedlicher Fallzahl, Medikamentengruppen.

Darstellung der Ergebnisse in Boxplots:

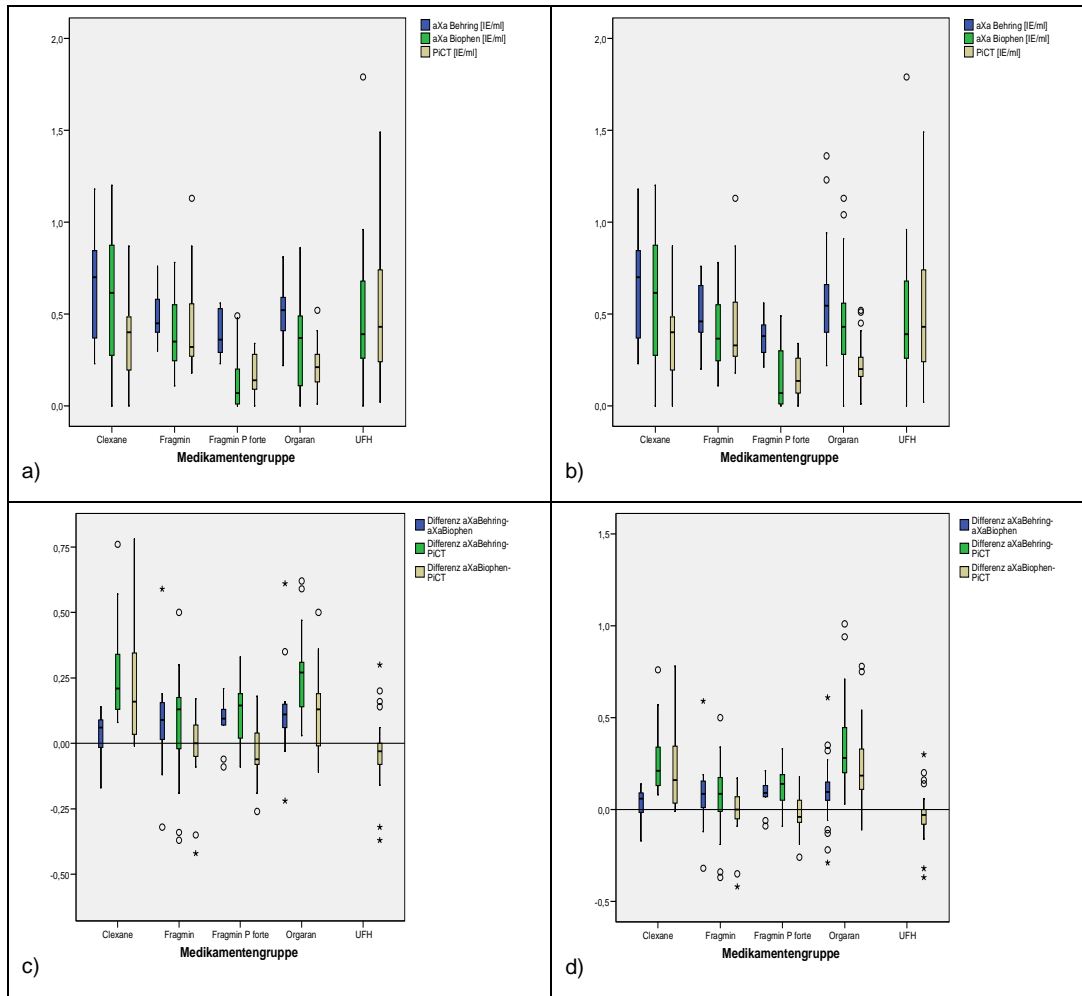


Abbildung 8: Darstellung der Rohwerte und Differenzen in Boxplots, Medikamentengruppen.  
 Legende: a) Rohwerte erste Messung b) Rohwerte alle Messungen c) Differenzen erste Messung d) Differenzen alle Messungen

Darstellung der Ergebnisse in Streudiagrammen:

Clexane:

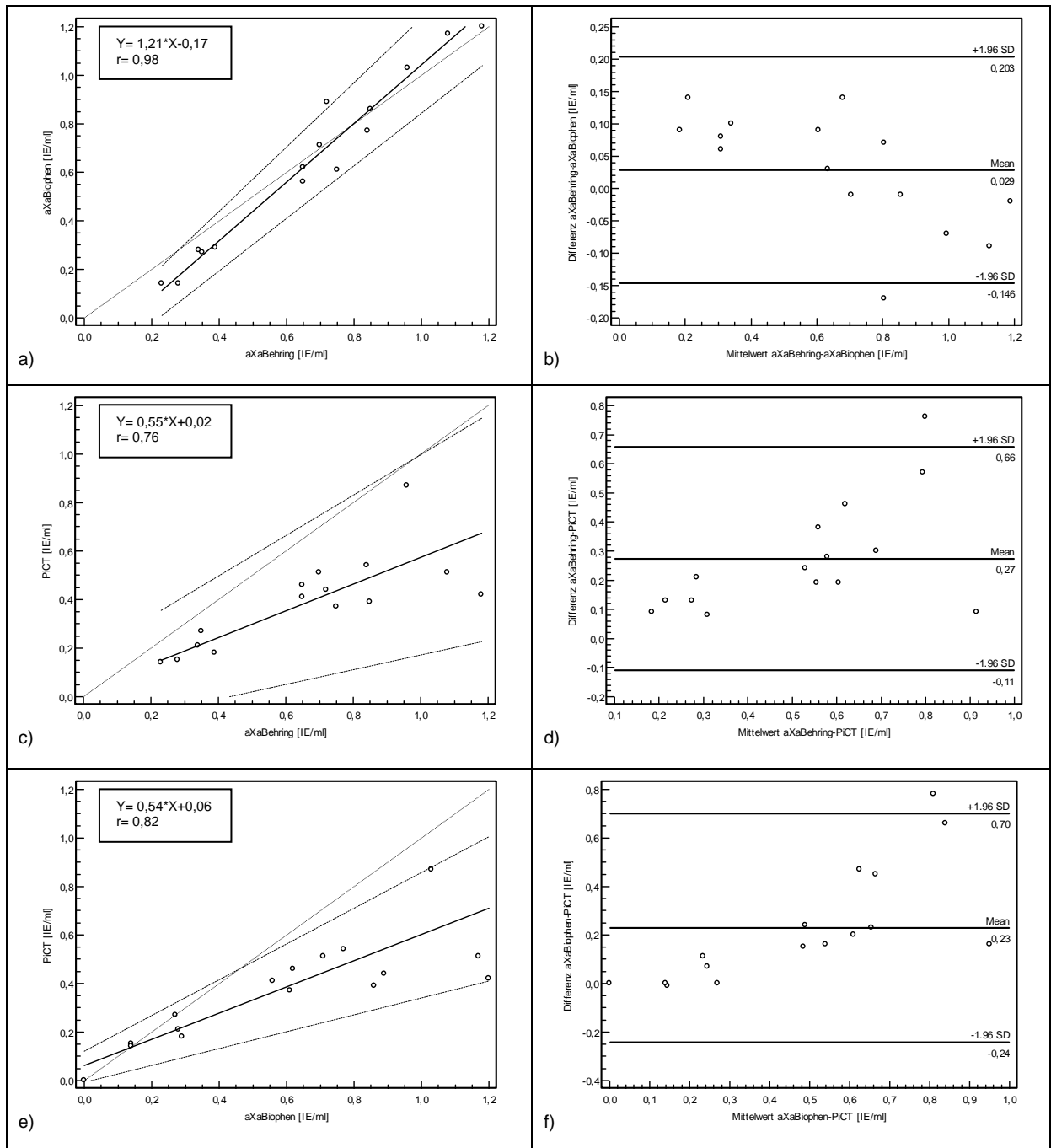


Abbildung 9: Darstellung der Messwerte in Streudiagrammen, Clexane.  
 Legende: Links Passing-Bablok Regression mit Winkelhalbierender, Regressionsgerade und Konfidenzintervallen. Rechts Bland-Altman Plots.  
 a) und b) aXa Behring-aXa Biophen, c) und d) aXa Behring-PiCT, e) und f) aXa Biophen-PiCT

**Fragmin:**

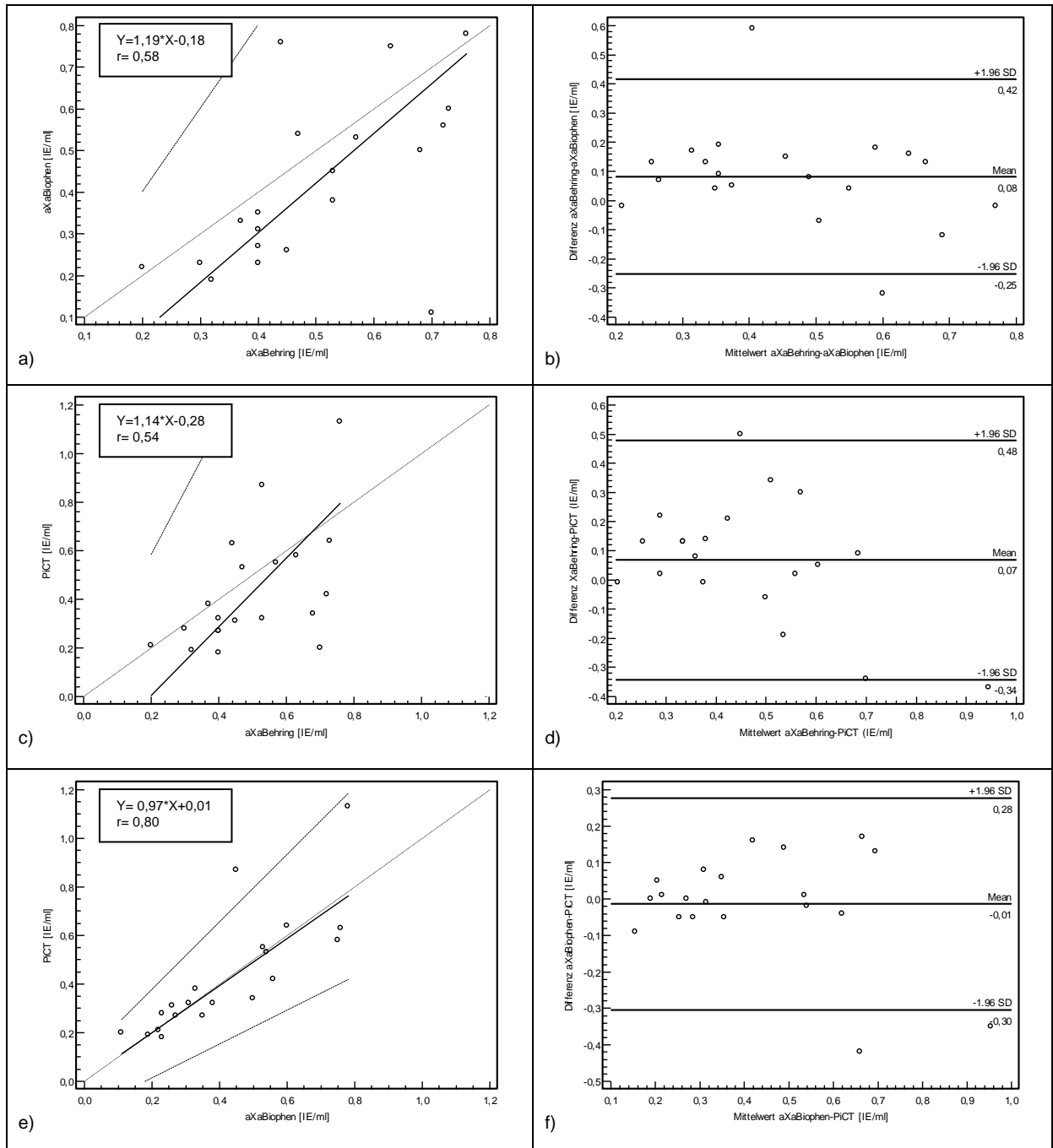


Abbildung 10: Darstellung der Messwerte in Streudiagrammen, Fragmin.  
 Legende: Links Passing-Bablok Regression mit Winkelhalbierender, Regressionsgerade und Konfidenzintervallen. Rechts Bland-Altman Plots.  
 a) und b) aXa Behring-aXa Biophen, c) und d) aXa Behring-PICT, e) und f) aXa Biophen-PICT

**Fragmin P forte:**

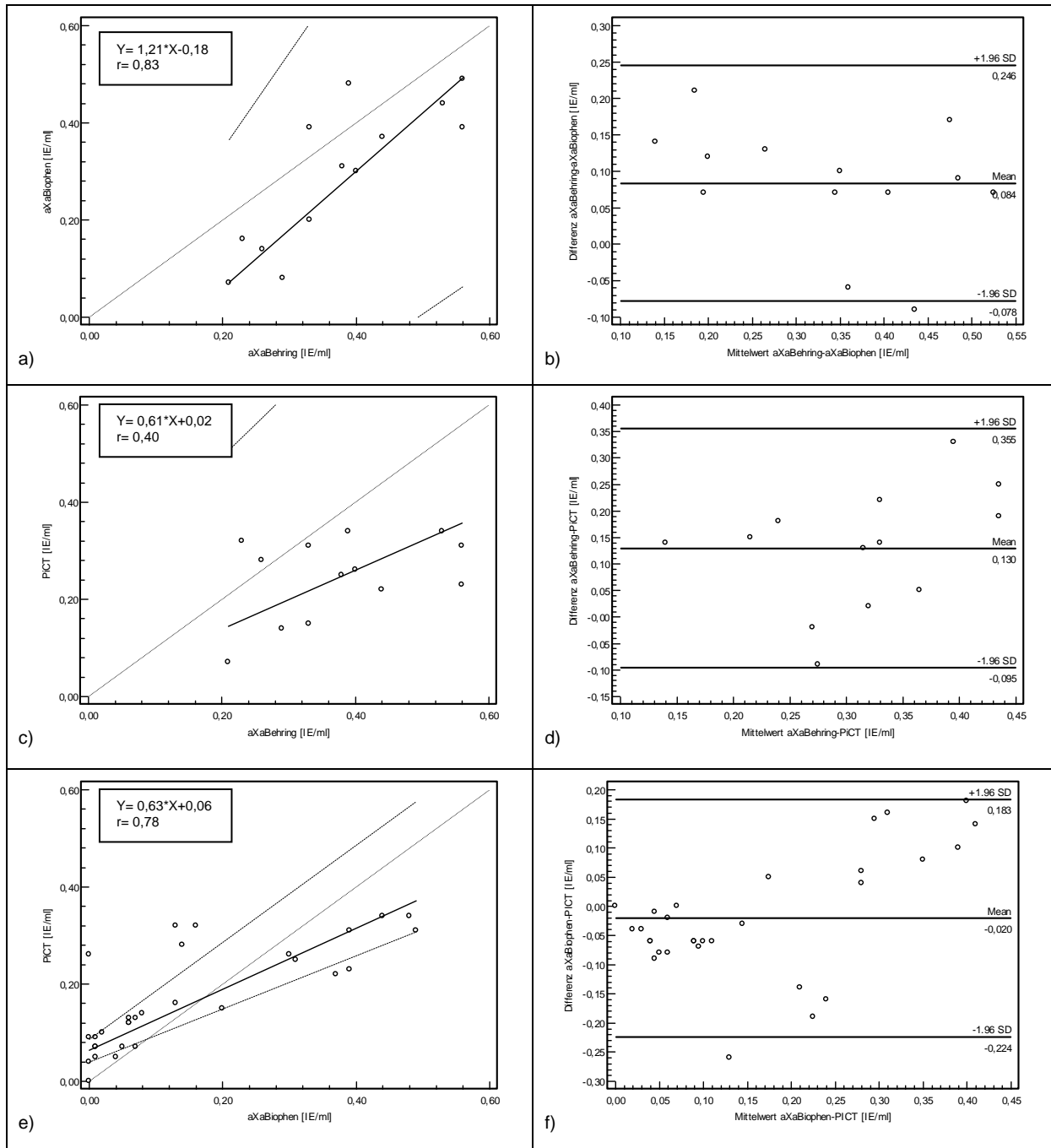


Abbildung 11: Darstellung der Messwerte in Streudiagrammen, Fragmin P forte.  
 Legende: Links Passing-Bablok Regression mit Winkelhalbierender, Regressionsgerade und Konfidenzintervallen. Rechts Bland-Altman Plots.  
 a) und b) aXa Behring-aXa Biophen, c) und d) aXa Behring-PiCT, e) und f) aXa Biophen-PiCT

Organ:

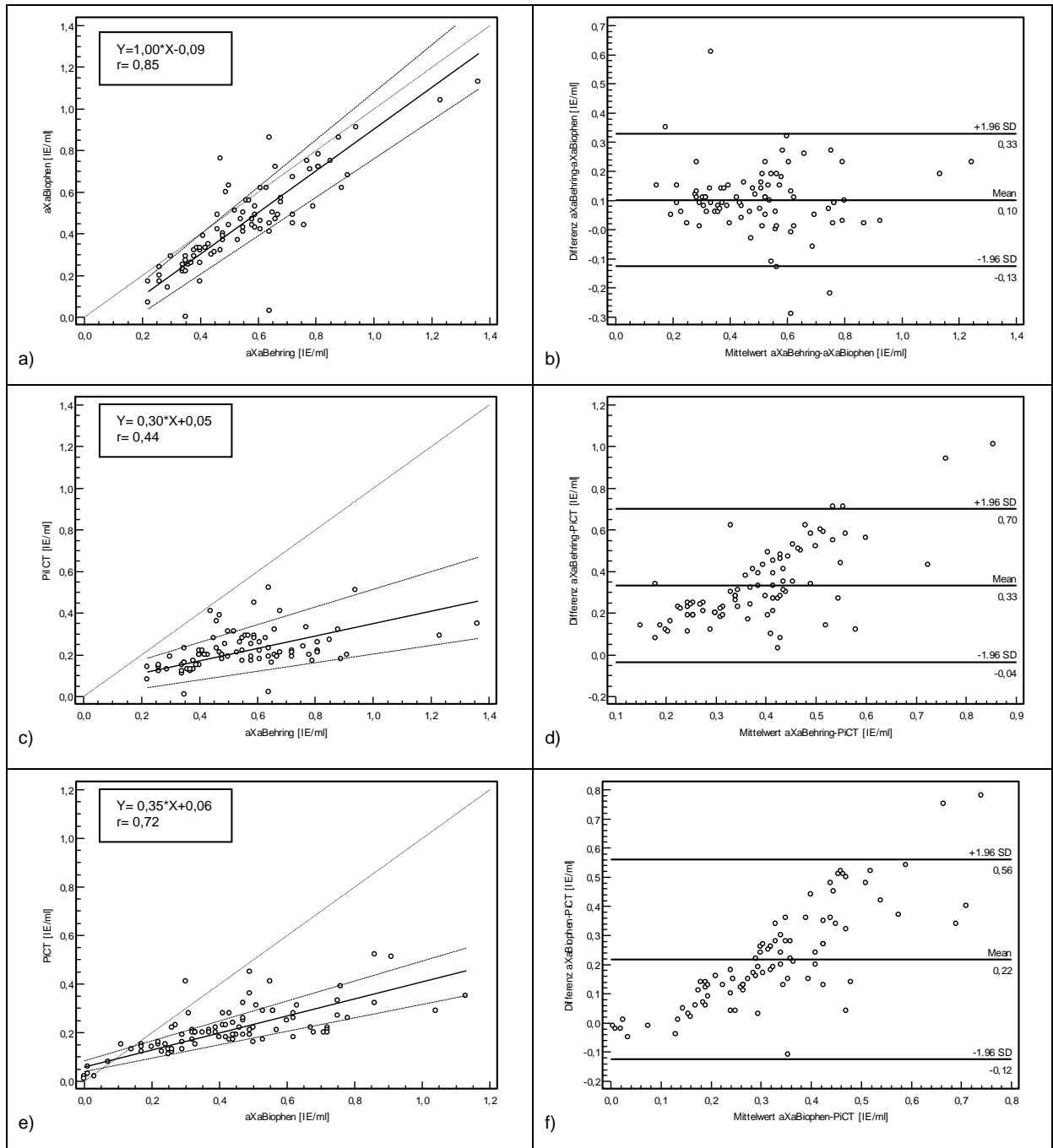


Abbildung 12: Darstellung der Messwerte in Streudiagrammen, Organ.  
 Legende: Links Passing-Bablok Regression mit Winkelhalbierender, Regressionsgerade und Konfidenzintervallen. Rechts Bland-Altman Plots.  
 a) und b) aXa Behring-aXa Biophen, c) und d) aXa Behring-PiCT, e) und f) aXa Biophen-PiCT



UFH:

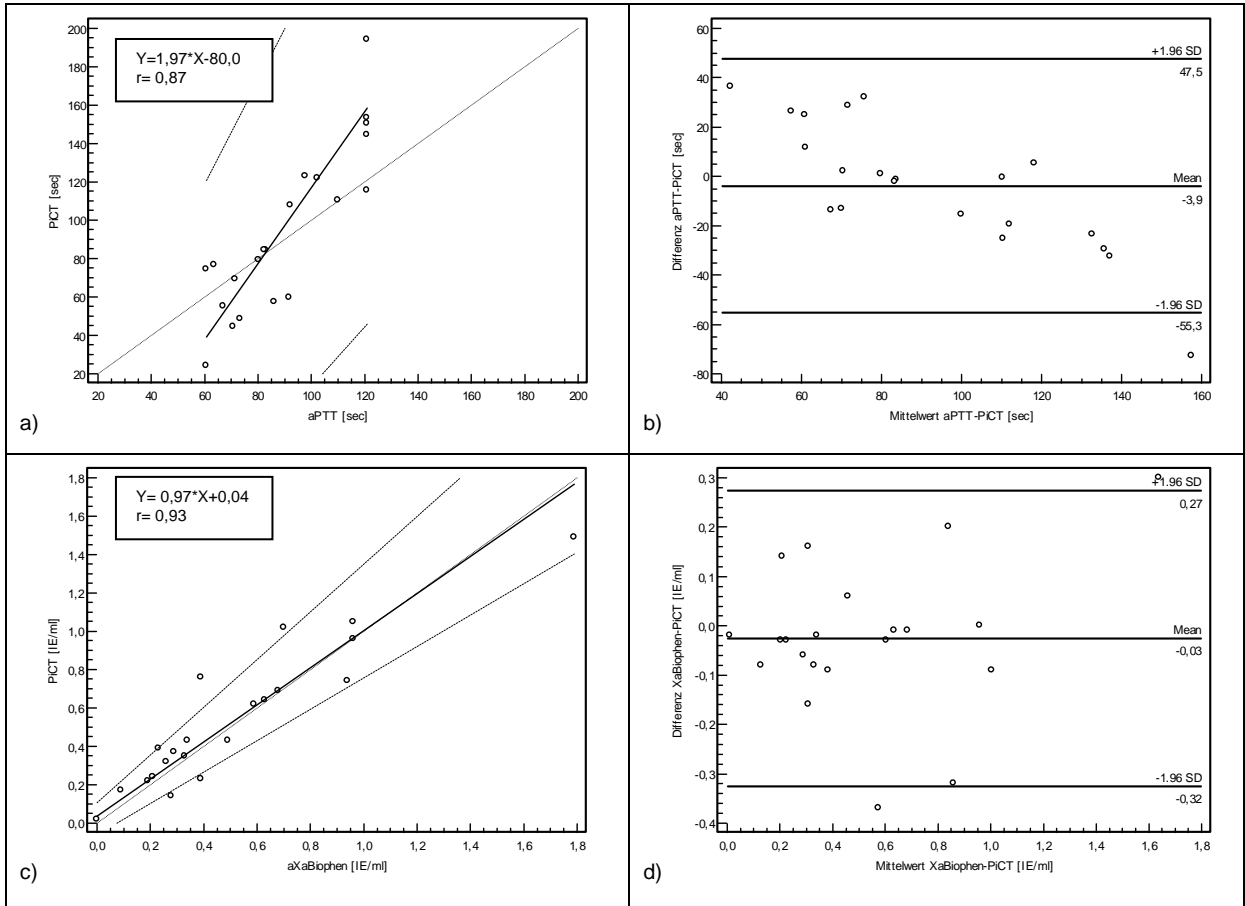


Abbildung 13: Darstellung der Messwerte in Streudiagrammen, UFH. Legende: Links Passing-Bablok Regression mit Winkelhalbierender, Regressionsgerade und Konfidenzintervallen. Rechts Bland-Altman Plots. a) und b) aPTT-P ICT, c) und d) aXa Biophen-P ICT

#### 4.2.6 Zusammenfassung Ergebnisse Medikamentengruppen

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die aXa-Methoden bei allen Medikamentengruppen, außer UFH, im Schnitt höhere Werte messen als das PiCT-Verfahren. Insgesamt liefert aXa Behring die höchsten Messergebnisse.

Die beste Übereinstimmung insgesamt liegt zwischen aXa Behring und aXa Biophen vor, mit dem höchsten Korrelationskoeffizienten in der Medikamentengruppe Clexane ( $r= 0,98$ ). Nur für die Gruppe Fragmin trifft dies nicht zu, da hier die beste Übereinstimmung zwischen aXa Biophen und PiCT ( $r= 0,80$ ) besteht.

Vergleicht man die Differenzen aller Medikamentengruppen, so lässt sich der größte Unterschied zwischen den Messergebnissen stets beim Paar aXa Behring-PiCT feststellen. Die maximalen Differenzen liegen insgesamt im Bereich von 0,33 IE/ml (Gruppe Fragmin P forte) bis 1,01 E/ml (Gruppe Orgaran). Auch bei der Spannweite der Differenzen liegen bei Fragmin P forte kleinere Werte (0,30- 0,46 IE/ml) vor als bei den anderen Gruppen insgesamt (0,59-1,20 IE/ml).

Weiter fällt auf, dass in jeder analysierten Medikamentengruppe außer Fragmin ein Größerwerden der Abweichungen mit steigender Plasmakonzentration der anti-FXa-Aktivität zu erkennen ist. Bei den Gruppen Clexane und Orgaran besteht diese Tendenz beim Paar aXa Behring-PiCT und noch stärker bei aXa Biophen-PiCT. Bei Fragmin P forte ist dies nur bei aXa Behring-PiCT zu beobachten. Beim Vergleich der verwandten aXa-Methoden zeigt sich dieser Trend in keiner Gruppe.

Zudem ist zu beobachten, dass PiCT in den Gruppen Fragmin P forte und Orgaran im Bereich niedriger Konzentrationen höhere Werte misst als aXa Biophen. In der Gruppe Fragmin hingegen, misst PiCT im Bereich hoher Konzentrationen höhere Werte im Vergleich zu aXa Behring.

Da bei UFH die aXa-Bestimmung nicht die Methode der Wahl ist, sollte man die Ergebnisse dieser Gruppe gesondert betrachten. Hier ist festzustellen, dass aPTT und PiCT im Vergleich ihrer Messwerte sehr gut übereinstimmen ( $r= 0,87$ ). Auch aXa Biophen und PiCT zeigen eine fast vollständige Korrelation ( $r=0,93$ ). Bei diesem Paar ist, ebenso wie bei den o.g. Medikamentengruppen, erkennbar, dass mit Zunahme der Plasmakonzentration auch die Differenzen größer werden. Im Gegensatz zu den anderen Medikamentengruppen misst PiCT hier überwiegend höhere Werte als der aXa-Test.

### 4.3 Untergruppen

Schließlich werden die verschiedenen Messmethoden hinsichtlich ihrer Ergebnisse in den einzelnen Untergruppen verglichen. Das Augenmerk liegt nun auf möglichen Abweichungen von den in den zuvor untersuchten Gruppen gemachten Beobachtungen durch die jeweiligen Einflussfaktoren.

Eine detaillierte Aufstellung der Messwerte geben die jeweiligen Tabellen. Eine Übersicht über die Korrelationskoeffizienten gibt Tabelle 13. Auf eine graphische Darstellung der Ergebnisse wurde in diesem Kapitel verzichtet.

#### 4.3.1 Schwangere

Die Messwerte dieser Gruppe liegen insgesamt zwischen 0,00 und 0,56 IE/ml (Median min. 0,06, max. 0,19 IE/ml). Es lässt sich ablesen, dass aXa Behring die höchsten Werte misst (siehe Tab. 9).

Betrachtet man die zu vergleichenden Paare einzeln, so ergibt sich bei aXa Behring-aXa Biophen eine fast vollständige Übereinstimmung der Ergebnisse mit einem Korrelationskoeffizienten  $r$  von 0,85. Dies ist auch bei aXa Biophen-PiCT der Fall ( $r=0,91$ ). Die beiden Verfahren aXa Behring und PiCT zeigen eine starke Korrelation ( $r=0,64$ ) (siehe Tab. 13).

Medikamenten- gruppe	Messmethode [Einheit]	Messung (Fallzahl)	Mittelwert	Median	Standard- abweichung	Minimum	Maximum	
Fragmin P forte	Rohwerte	aXa Behring [IE/ml]	alle (n= 21)	0,26	0,19	0,12	0,19	0,56
			alle korrigiert (n= 7)	0,40	0,38	0,13	0,21	0,56
		aXa Biophen [IE/ml]	alle	0,13	0,06	0,16	0,00	0,49
		PiCT [IE/ml]	alle	0,13	0,12	0,09	0,00	0,31
	Differenzen	aXa Behring- aXa Biophen [IE/ml]	alle	0,13	0,14	0,06	-0,06	0,19
			alle korrigiert	0,08	0,07	0,08	-0,06	0,17
		aXa Behring- PiCT [IE/ml]	alle	0,13	0,12	0,08	0,02	0,33
			alle korrigiert	0,18	0,18	0,10	0,02	0,33
		aXa Biophen- PiCT [IE/ml]	alle	0,00	-0,03	0,08	-0,08	0,18

Tabelle 9: Rohwerte und Differenzen der verschiedenen Messmethoden bei unterschiedlicher Fallzahl, Schwangere.

### 4.3.2 Adipöse

#### 4.3.2.1 NMH

Bei den adipösen Patienten, die mit einem NMH behandelt wurden, ergeben sich insgesamt Messwerte von min. 0,00 bis max. 1,17 IE/ml (Median min. 0,14 IE/ml, max. 0,35 IE/ml). AXa Behring misst die höchsten Werte (siehe Tab. 10).

Im Vergleich aXa Behring-aXa Biophen und auch bei aXa Biophen-PiCT liegt eine fast vollständige Übereinstimmung mit  $r = 0,98$  bzw.  $r = 0,84$  vor. Die Verfahren aXa Behring und PiCT stimmen stark überein ( $r = 0,76$ ) (siehe Tab. 13).

#### 4.3.2.2 UFH

Die Messwerte dieser Gruppe liegen für aPTT und PiCT insgesamt zwischen min. 48,5 und max. 153,4 sec (Median 90,1 bzw. 103,9 sec), für aXa Biophen und PiCT zwischen min. 0,09 und max. 1,05 IE/ml (Median 0,44 bzw. 0,60 IE/ml).

Beim Vergleich von aPTT und PiCT misst das neuere Verfahren im Schnitt höhere Werte als das Standardverfahren. Auch beim Paar aXa Biophen und PiCT ist dies der Fall (siehe Tab. 10). Die Ergebnisse beider Verfahren stimmen fast vollständig überein:  $r = 0,93$  bei aPTT-PiCT,  $r = 0,91$  bei aXa Biophen- PiCT (siehe Tab. 13).

Medikamenten- gruppe	Messmethode [Einheit]	Messung (Fallzahl)	Mittelwert	Median	Standard- abweichung	Minimum	Maximum	
NMH	Rohwerte	aXa Behring [IE/ml]	alle (n= 25)	0,39	0,28	0,26	0,19	1,08
			alle korrigiert (n= 17)	0,48	0,35	0,27	0,21	1,08
		aXa Biophen [IE/ml]	alle	0,29	0,14	0,33	0,00	1,17
		PiCT [IE/ml]	alle	0,28	0,27	0,27	0,00	1,13
	Differenzen	aXa Behring- aXa Biophen [IE/ml]	alle	0,10	0,13	0,08	-0,09	0,21
			alle korrigiert	0,07	0,08	0,09	-0,09	0,21
		aXa Behring- PiCT [IE/ml]	alle	0,11	0,13	0,17	-0,37	0,57
			alle korrigiert	0,12	0,13	0,19	-0,37	0,57
aXa Biophen- PiCT [IE/ml]	alle	0,01	-0,01	0,18	-0,35	0,66		
UFH	Rohwerte	aPTT [sec]	alle (n= 6)	92,7	90,1	25,1	60,6	121,0
		PiCT [sec]	alle	104,7	103,9	41,9	48,5	153,4
		aXa Biophen [IE/ml]	alle	0,54	0,44	0,35	0,09	0,96
		PiCT [IE/ml]	alle	0,62	0,60	0,36	0,17	1,05

	Differenzen	aPTT- PiCT [sec]	alle	-12,1	-18,6	20,9	-32,4	24,8
		aXa Biophen- PiCT [IE/ml]	alle	-0,08	-0,05	0,15	-0,37	0,06

Tabelle 10: Rohwerte und Differenzen der verschiedenen Messmethoden bei unterschiedlicher Fallzahl, Adipöse.

### 4.3.3 Niereninsuffiziente

Bei der Gruppe Niereninsuffiziente ist festzustellen, dass aXa Behring im Schnitt die höchsten Messwerte liefert. Die Werte erstrecken sich insgesamt von 0,00 bis 0,56 E/ml (Median min. 0,06 E/ml, max. 0,19 E/ml) (siehe Tab. 11).

Betrachtet man das Paar aXa Behring- aXa Biophen, so ergibt sich eine starke Übereinstimmung ( $r= 0,76$ ). Auch aXa Behring und PiCT korrelieren noch stark ( $r= 0,61$ ). Die Ergebnisse des Paares aXa Biophen- PiCT stimmen fast vollständig überein ( $r= 0,88$ ) (siehe Tab. 13).

Medikamentengruppe	Messmethode [Einheit]	Messung (Fallzahl)	Mittelwert	Median	Standardabweichung	Minimum	Maximum	
Organan	Rohwerte	aXa Behring [E/ml]	alle (n= 43)	0,26	0,19	0,12	0,19	0,56
		aXa Biophen [E/ml]	alle	0,13	0,06	0,16	0,00	0,49
		PiCT [E/ml]	alle	0,13	0,12	0,09	0,00	0,31
	Differenzen	aXa Behring- aXa Biophen [E/ml]	alle	0,08	0,09	0,12	-0,29	0,35
		aXa Behring- PiCT [E/ml]	alle	0,30	0,28	0,13	0,08	0,58
		aXa Biophen- PiCT [E/ml]	alle	0,22	0,20	0,11	-0,01	0,48

Tabelle 11: Messwerte und Differenzen der verschiedenen Messmethoden bei unterschiedlicher Fallzahl, Niereninsuffiziente.

### 4.3.4 unselektiertes Kollektiv

#### 4.3.4.1 NMH

Betrachtet man die Messwerte der verschiedenen Methoden bezüglich der NMH-Proben, so finden sich insgesamt Werte von 0,00 bis 0,89 IE/ml. AXa Behring misst im Schnitt die höchsten Werte (Median 0,53 IE/ml), PiCT die Niedrigsten (Median 0,36 IE/ml) (siehe Tab. 12).

Im Vergleich der beiden aXa-Tests zeigt der Korrelationskoeffizient  $r$  von 0,69 eine starke Übereinstimmung der Verfahren. Dies gilt auch für aXa Biophen-PiCT ( $r=$

0,64). Schwächer ist die Übereinstimmung zwischen aXa Behring und PiCT ( $r= 0,43$ ) (siehe Tab. 13).

#### 4.3.4.2 UFH

Bei der Gruppe UFH kann man in Tabelle 12 ablesen, dass im Vergleich von aPTT und PiCT Messwerte von min. 24,0 sec bis max. 193,9 sec vorliegen. Es besteht eine fast vollständige Übereinstimmung der Werte ( $r= 0,86$ ).

Im Vergleich von aXa Biophen und PiCT liegen die Messergebnisse in einem Bereich von 0,00 bis 1,79 IE/ml (Median 0,37 bis 0,41 IE/ml). PiCT misst beim unselektierten Kollektiv im Schnitt etwas höhere Werte als die aXa-Methode. Auch hier liegt eine fast vollständige Übereinstimmung vor ( $r= 0,97$ ) (siehe Tab. 13).

Medikamenten- gruppe	Messmethode [Einheit]	Messung (Fallzahl)	Mittelwert	Median	Standard- abweichung	Minimum	Maximum	
NMH	Rohwerte	aXa Behring [IE/ml]	alle (n= 26)	0,52	0,50	0,19	0,19	0,85
			alle korrigiert (n= 25)	0,53	0,53	0,18	0,20	0,85
		aXa Biophen [IE/ml]	alle	0,45	0,45	0,23	0,00	0,89
		PiCT [IE/ml]	alle	0,39	0,36	0,17	0,18	0,87
	Differenzen	aXa Behring- aXa Biophen [IE/ml]	alle	0,07	0,09	0,16	-0,32	0,59
			alle korrigiert	0,06	0,09	0,16	-0,32	0,59
		aXa Behring- PiCT [IE/ml]	alle	0,13	0,13	0,19	-0,34	0,50
			alle korrigiert	0,14	0,13	0,19	-0,34	0,50
		aXa Biophen- PiCT [IE/ml]	alle	0,06	0,06	0,18	-0,42	0,47
		UFH	Rohwerte	aPTT [sec]	alle (n= 12)	90,9	88,9	19,6
PiCT [sec]	alle			89,0	81,9	44,9	24,0	193,9
aXa Biophen [IE/ml]	alle			0,53	0,37	0,47	0,00	1,79
PiCT [IE/ml]	alle			0,50	0,41	0,39	0,02	1,49
Differenzen	aPTT- PiCT [sec]		alle	1,9	1,6	29,8	-72,9	36,5
	aXa Biophen- PiCT [IE/ml]		alle	0,03	-0,02	0,14	-0,16	0,30

Tabelle 12: Rohwerte und Differenzen der verschiedenen Messmethoden bei unterschiedlicher Fallzahl, Unselektiertes Kollektiv.

### 4.3.5 Zusammenfassung Ergebnisse Untergruppen

Bei allen untersuchten Gruppen außer UFH liefern im Schnitt die aXa-Methoden höhere Messwerte als PiCT, wobei insgesamt aXa Behring die höchsten Werte misst.

Der größte Unterschied bezüglich der Ergebnisse im Vergleich aller Untergruppen besteht zwischen den Verfahren aXa Behring und PiCT. Dies ist bei der Gruppe NMH des unselektierten Kollektivs am stärksten ausgeprägt ( $r = 0,43$ ).

Das Paar aXa Behring-aXa Biophen, das in den vorangegangenen Kapiteln stets die geringsten Unterschiede bot, stimmt auch bei den Gruppen NMH der Untergruppen Adipöse und unselektiertes Kollektiv am besten überein ( $r = 0,98$  bzw.  $r = 0,69$ ). Bei den Untergruppen Schwangere und Niereninsuffiziente jedoch, zeigt das Paar aXa Biophen-PiCT die bessere Korrelation ( $r = 0,91$  bzw.  $r = 0,88$ ).

Die maximalen Differenzen liegen insgesamt im Bereich von 0,33 IE/ml (Gruppe Schwangere) bis 0,66 E/ml (Gruppe Niereninsuffiziente). Auch bei der Spannweite der Differenzen liegen bei Schwangere kleinere Werte (0,25- 0,35 IE/ml) vor als bei den anderen Gruppen insgesamt (0,30-1,01 IE/ml).

Wie schon bei der Analyse der Medikamentengruppen aufgefallen, misst beim Medikament UFH, das in den Gruppen Adipöse und unselektiertes Kollektiv untersucht wurde, PiCT größere Werte als aXa Biophen.

Insgesamt stimmen die Messergebnisse gut überein; die medianen Differenzen liegen in einem im Vergleich sehr engen Bereich von -0,05 bis -0,02 IE/ml. Die Korrelationskoeffizienten liegen in der Gruppe Adipöse bei  $r = 0,93$  für aPTT-PiCT und  $r = 0,91$  für aXa Biophen-PiCT, in der Gruppe unselektiertes Kollektiv bei  $r = 0,86$  für aPTT-PiCT und  $r = 0,97$  für aXa Biophen-PiCT.

Es zeigen sich bei den absoluten Werten der Mediane in der Gruppe Adipöse im Vergleich zu den anderen Untergruppen sehr hohe Messwerte mit 0,44 IE/ml für aXa Biophen und 0,66 IE/ml für PiCT. Auch finden sich die höchsten Maximalwerte im Gesamtvergleich bei den UFH-Proben der Untergruppe unselektiertes Kollektiv (aXa Biophen: 1,79 IE/ml, PiCT: 1,49 IE/ml).

<b>Methoden</b> <b>Untergruppen</b>	<b>aXa Behring- aXa Biophen</b>	<b>aXa Behring- PiCT</b>	<b>aXa Biophen- PiCT</b>	<b>aPTT- PiCT</b>
<b>Schwangere</b>	0,85	0,64	0,94	-
<b>Adipöse NMH</b>	0,95	0,76	0,84	-
<b>Adipöse UFH</b>	-	-	0,91	0,93
<b>Niereninsuffiziente</b>	0,76	0,61	0,88	-
<b>Unselektiertes Kollektiv NMH</b>	0,69	0,43	0,64	-
<b>Unselektiertes Kollektiv UFH</b>	-	-	0,97	0,86

Tabelle 13: Korrelationskoeffizienten r der verglichenen Messmethoden, Untergruppen.



#### 4.4 Vergleich der Messwerte im Bereich hoher aXa-Konzentrationen

Die Ergebnisse der untersuchten Methoden wurden im Folgenden genauer betrachtet, wenn für aXa Behring Werte >0,95 IE/ml oder für PiCT >0,90IE/ml vorliegen (siehe Tab. 14).

Es zeigt sich, dass die beiden aXa-Verfahren auch im Bereich hoher Konzentrationen ähnliche Ergebnisse liefern und PiCT überwiegend niedrigere Werte misst.

Jedoch fällt auf, dass dies nicht immer zutrifft: In einem Fall misst PiCT z.B. einen Wert von 1,13 IE/ml, während die aXa-Tests deutlich niedrigere Werte liefern (0,76 IE/ml bei aXa Behring, 0,78 bei aXa Biophen).

Anzahl			aXa Biophen [IE/ml]						Gesamt
			,78	1,03	1,04	1,13	1,17	1,20	
,29	aXa	1,23							
	Behring [IE/ml]			1					1
	Gesamt			1					1
,35	aXa	1,36							
	Behring [IE/ml]				1				1
	Gesamt				1				1
,42	aXa	1,18							
	Behring [IE/ml]						1		1
	Gesamt						1		1
,51	aXa	1,08							
	Behring [IE/ml]					1			1
	Gesamt					1			1
,87	aXa	,96							
	Behring [IE/ml]		1						1
	Gesamt		1						1
1,13	aXa	,76							
	Behring [IE/ml]		1						1
	Gesamt		1						1

Tabelle 14 Vergleich der Ergebnisse der verschiedenen Messmethoden bei aXa Behring >0,95IE/ml oder PiCT >0,90 IE/ml

## 4.5 Abnahmezeitpunkt

Es wurde untersucht, ob die Bestimmung der Gerinnungsaktivität innerhalb der empfohlenen Zeit (3-5 Std. p.i. für s.c. verabreichte NMH oder Heparinoide) erfolgte.

Von den 175 ausgewerteten Proben wurde bei 46 Proben ein NMH, bei 3 Proben ein Heparinoid s.c. verabreicht.

Insgesamt lag der Abnahmezeitpunkt bei 2 Proben (4,1 %) im empfohlenen Zeitraum von 180-300 min nach Applikation des Antikoagulans. Bei 20 Proben (40,8 %) erfolgte die Blutentnahme weniger als 180 min nach Medikamentengabe, und bei 27 Proben (55,1%) später als 300 min.

Detaillierte Angaben zur Häufigkeitsverteilung der Ergebnisse liefert Tabelle 15. Eine graphische Darstellung bietet Abbildung 14.

Medikamenten- gruppe	Mittelwert	Median	Standard- abweichung	Minimum	Maximum
Clexane (n=16)	469,1	670,0	339,8	60,0	900,0
Fragmin P forte (n=30)	413,5	390,0	330,6	60,0	1410,0
Orgaran (n=3)	340,0	360,0	210,7	120,0	540,0

Tabelle 15: Zeit nach Verabreichung des Medikaments bis Probenentnahme in Minuten

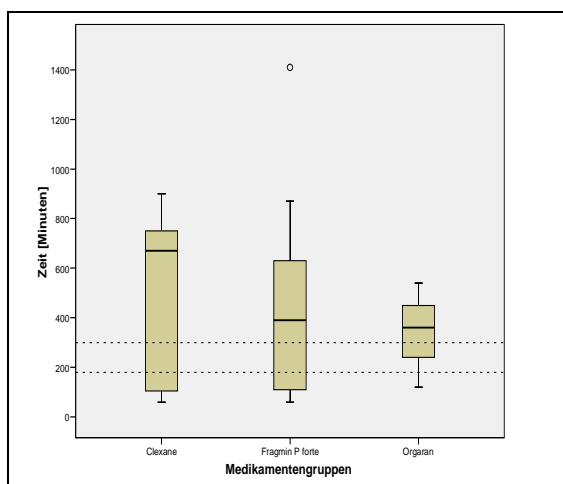


Abbildung 14: Häufigkeitsverteilung Zeit nach Verabreichung des Medikaments bis Probenentnahme.  
Eingezeichneter Bereich: 180-300 min

## 5 Diskussion

Das Auftreten von Thrombosen ist eines der Hauptprobleme in der heutigen Medizin (61).

Bei hospitalisierten Patienten liegt das Risiko für eine venöse Thrombembolie ohne Prophylaxe zwischen 10 und 40% (62). Durch Faktoren wie z.B. orthopädische Operationen, Varikosis oder Tumorleiden (1) wird dieses Risiko weiter erhöht.

Um das Eintreten eines thrombotischen Ereignisses zu vermeiden, kommen unterschiedliche Antikoagulantien zum Einsatz. Die pharmakologischen Eigenschaften jener gerinnungshemmenden Medikamente können durch verschiedene Patientenvariablen, z.B. Alter, Gewicht (20, 63) und Begleiterkrankungen (z.B. Niereninsuffizienz) (64–66), verändernd beeinflusst werden.

Da die Konsequenzen wie Thrombose durch Unterdosierung oder Blutungen durch Überdosierung oder Akkumulation (67–69) lebensbedrohlich werden können, ist die Frage nach einer adäquaten Therapiekontrolle von zentralem Interesse.

Nach gegenwärtiger Expertenmeinung (10, 16, 48) ist bei einer prophylaktischen Antikoagulation in den meisten Fällen kein Monitoring angezeigt. Erfolgt jedoch eine Behandlung mit therapeutischer Dosierung des Gerinnungshemmers, wird häufig zur Vermeidung o.g. Komplikationen ein Monitoring in Abhängigkeit von dem verwendeten Präparat und der klinischen Situation des Patienten empfohlen.

Während bei VKA und UFH regelmäßige Kontrollen der INR bzw. aPTT zur Anpassung der verabreichten Dosis zur Routine gehören, wird bei NMH die Überwachung der therapeutischen Anwendung mit Gerinnungstests kontrovers diskutiert und nur in bestimmten Fällen, wie z.B. bei Schwangerschaft, befürwortet (10, 16, 48).

In der vorliegenden Studie wurden verschiedene Methoden zum Monitoring der antikoagulatorischen Therapie mit niedermolekularen Heparinen und Heparinoiden verglichen.

Die Arbeit knüpft damit an aktuelle Fragestellungen zur Notwendigkeit und Bedeutung dieses Monitorings an, die im Nachfolgenden zusammenfassend dargestellt und in Bezug zum aktuellen Stand der Wissenschaft gebracht werden sollen.

#### Debatte Monitoring NMH:

Auf Grundlage der Ergebnisse klinischer Studien zur Beurteilung von Effektivität und Sicherheit der NMH-Therapie erklärt Boneu in einem frühen Review (70), dass eine Therapieüberwachung für die Mehrheit der Patienten nicht erforderlich ist. Zusammen mit anderen Autoren (20) vertritt er die Meinung, dass mit den bestehenden Nachweisverfahren für NMH kein Beitrag zur Steigerung von Effektivität und Sicherheit erbracht, und das Ziel des Drug-Monitorings somit nicht erreicht werden kann (54).

Den fehlenden Einfluss auf die Effektivität begründen Bounameaux und Moerloose (20) mit dem Verweis auf eine Studie (71), die zeigt, dass letztlich kein nennenswerter Unterschied zwischen der Höhe einer durch Monitoring angepassten Dosis und einer fixen Dosis besteht. Auch kann die Sicherheit nicht gesteigert werden, da sich das aXa-Plasmalevel nicht zur Vorhersage möglicher Komplikation eignet.

Weiter stellen Hemker *et al.* (53) als eine große Schwäche dar, dass die bestehenden Methoden nicht den Effekt des Medikaments, sondern allenfalls seine Konzentration messen. Die aXa-Tests bilden zudem nicht die anti-FIIa Aktivität der Gerinnungshemmer ab. Die bestehenden Unterschiede zwischen der anti-FIIa-Aktivität der einzelnen NMH bleibt somit unbeachtet (72).

Aus den Ergebnissen der aXa-Bestimmung können somit falsche Informationen und daraus letztlich falsche Therapieentscheidungen resultieren, wenn die geringe Vergleichbarkeit der Tests (7, 40, 49) und die unklare Beziehung der Ergebnisse zum klinischen Outcome (15, 48, 51) bei der Interpretation nicht bedacht werden. Als Konsequenz folgert Shojania (72), dass, bis eine standardisierte und reproduzierbare Methode gefunden ist, keine Rechtfertigung zum Monitoring des therapeutischen Bereichs der NMH besteht.

Dennoch spricht sich auch die Mehrzahl der Monitoring-Gegner für eine Therapieüberwachung in bestimmten Fällen, wie z.B. Patienten mit großem Unter- oder Übergewicht, Kindern, Schwangeren oder Niereninsuffizienten aus (20, 54, 72).

Harenberg (47) erweitert diese Indikationen um u.a. Patienten mit Langzeittherapie bei malignen Erkrankungen, mit Cumarin-refraktärer Thromboseneigung oder hohem Blutungsrisiko, z.B. nach Operationen.

Dieses Blutungsrisiko ist das Hauptargument, das für ein Monitoring spricht. Es besteht nach wie vor bei jedem eingesetzten Antikoagulans (4, 16) und kann laut Dörffler-Melly *et al.* (73) durch Komedikation noch verstärkt werden. Schaden *et al.* (25) betonen die teilweise immensen Risikounterschiede, die zwischen den einzelnen Patienten bestehen. Auch in Hinblick darauf, dass für NMH, Danaparoid und auch für neue Antikoagulantien bisher kein suffizientes Antidot verfügbar ist (4), erklären sie, dass eine Ablehnung der Therapieüberwachung fahrlässig ist. Damit stimmen sie mit der schon Jahre zuvor von Walenga und Hoppensteadt (52) vertretenen Meinung überein, dass die Behauptung, bei NMH sei kein Monitoring nötig, eine unethische Lösung ist.

Auch Tripodi und van de Besselaar (6) greifen mit ihrem Review von 2009 die Thematik noch einmal auf. Mit ihrer These, dass auch für die neuen Antikoagulantien eine Therapiekontrolle nötig sein könnte, unterstreichen sie die Aktualität des bislang ungeklärten Problems.

## 5.1 Gegenstand des Monitorings: Die untersuchten Patientengruppen

Schwangerschaft, Adipositas oder eingeschränkte Nierenfunktion gelten als Risikofaktoren für das Auftreten einer Thrombose (1) und erfordern daher häufig eine medikamentöse Gerinnungshemmung.

Jedoch werden die genannten Gruppen in klinischen Medikamentenstudien meist ausgeschlossen (16, 52).

Obwohl eindeutige Belege für die Sicherheit der Heparin-Therapie in diesen Populationen fehlen (12), wurden die Dosis-Regimes in die tägliche klinische und ambulante Praxis übertragen (8). Eine Anwendung der Gerinnungshemmer auf dieser Grundlage kann man daher als off-label-use ansehen.

Aufgrund der unzureichenden Studienlage und da in diesen besonderen klinischen Situationen durch die von der Norm abweichende Pharmakokinetik die Dosisfindung erschwert sein kann, ist hier laut Expertenmeinung (10, 16, 48) eine Überwachung der antikoagulatorischen Therapie anzuraten.

In der vorliegenden Untersuchung wurde der Einfluss dieser Patientenvariablen auf die Ergebnisse der Gerinnungstests genauer betrachtet.

### 5.1.1 Schwangere

Eine Thromboseprophylaxe wird bei Schwangeren u.a. empfohlen zur Überbrückung der Therapie mit VKA, bei rezidivierenden Thrombosen und Thrombophilien (74).

Während der Schwangerschaft können das vergrößerte Plasmavolumen, die gesteigerte renale Clearance und das veränderte Verteilungsvolumen die Wirkung des verabreichten Antikoagulans beeinflussen (75).

Dieser „Verdünnungseffekt“ und die Tatsache, dass bei schwangeren Patientinnen eine verkürzte Gerinnungszeit besteht, führen dazu, dass die Dosis des Gerinnungshemmers, v.a. im dritten Trimenon, an den gesteigerten Bedarf angepasst werden muss (76). Andernfalls kann zu schweren thrombembolischen Ereignissen kommen (77).

Um solchen Komplikationen vorzubeugen, sollten Patientinnen, die NMH in therapeutischer Dosierung erhalten, ein Monitoring zur Anpassung der Dosis erhalten (10, 16).

Zur Optimierung der empfohlenen Therapieüberwachung sprechen sich Campbell *et al.* (78) für eine Kalibrierung des verwendeten Gerinnungstests mit einer Heparin-Verdünnung im Plasma von Schwangeren aus. Diese sollte für jedes NMH gesondert durchgeführt werden (78).

Es ist allerdings zu beachten, dass bei selbst angesetzten Standards von „Schwangeren-Plasmen“ von einer verminderten Vergleichbarkeit der Ergebnisse auszugehen ist. Im Gegensatz zum Regelfall, bei dem gegen den 2. Internationalen Standard für niedermolekulare Heparine kalibriertes Normalplasma verwendet wird (28), könnte sich hier eine Qualitätskontrolle der Herstellung als schwierig erweisen.

In der vorliegenden Studie zeigten sich bei der Gruppe Schwangere kleinere Messwerte im Vergleich zum Gesamtkollektiv.

Ähnliche Daten lassen sich in der Literatur finden: Verschiedene Autoren haben gezeigt, dass subkutan verabreichtes UFH oder NMH bei schwangeren Frauen zu niedrigeren aXa-Spiegeln führt als bei vergleichbaren Nicht-Schwangeren mit derselben Dosis (76, 79). Laut Fox *et al.* (80) ist dies sogar bei erhöhter NMH-Dosis der Fall.

Bisher bleibt unklar, welche Schlüsse aus diesen Ergebnissen gezogen werden können; es fehlen weitere Studien zu adaptierter Dosierung bei Schwangeren.

Die niedrigen Werte in der vorliegenden Untersuchung können auch durch den Abnahmezeitpunkt beeinflusst sein. Dieser sollte bei der Bewertung der Messergebnisse, v.a. beim Auftreten ungewöhnlich niedriger Werte, immer beachtet werden.

### **5.1.2 Adipöse**

Extreme Mengen subkutanen Fettgewebes können die lokale NMH-Resorption und Pharmakokinetik beeinflussen. Daraus können unberechenbare antikoagulatorische Effekte resultieren (63). Auch muss beachtet werden, dass das Blutvolumen nicht direkt proportional zum Gewicht ist und der vaskuläre Raum bei Adipösen nicht

überschätzt werden darf (20), da es sonst, v.a. bei gewichtsadaptierter Dosis, zu Überdosierungen kommen kann (41).

Dies zeigt sich in einer Studie von Heizmann *et al.* (63), bei der die mediane anti-Faktor Xa-Aktivität adipöser Patienten nach 4 Stunden 1,4 Mal größer war als bei der normalgewichtigen Vergleichsgruppe.

Auch in der vorliegenden Studie ergaben sich sehr hohe Messwerte bei der Untergruppe „Adipöse“. Da jedoch weder die verabreichte Dosis noch die Charakteristika der einzelnen Patienten einheitlich festgelegt waren, bleibt unklar, wie diese Ergebnisse zu bewerten sind.

Hirsh *et al.* (10) weisen darauf hin, dass bei Studien mit gewichtsadaptierter NMH-Dosis zwar erhöhte aXa-Level festgestellt werden konnten, diese aber nicht mit erhöhten Blutungsrisiken verbunden waren. Daher empfehlen sie trotz uneinheitlicher Studienlage bei der prophylaktischen und therapeutischen NMH-Behandlung adipöser Patienten eine gewichtsadaptierte Dosierung des Gerinnungshemmers.

### 5.1.3 Niereninsuffiziente

Eine verminderte Nierenfunktion geht mit einem Anstieg der Retentionsparameter (Kreatinin, Harnstoff) im Serum, mit einem Verlust der Filtrationsleistung und der tubulären und endokrinen Funktion beider Nieren einher.

Bei gerinnungshemmender Therapie mit UFH und NMH kann es zur Kumulation des verabreichten Medikaments und schweren Blutungen kommen (64, 66, 81).

Hier ist es entscheidend, welches NMH verwendet wird, da mit steigender Kettenlänge die renale Eliminierung abnimmt. So führt z.B. Enoxaparin zu stärkerer Kumulation als Dalteparin, da es ein niedrigeres Molekulargewicht besitzt.

Das Auftreten einer Blutung ist jedoch immer auch abhängig von der repetitiv verabreichten Dosis, der Dauer der Medikation, der Begleitmedikation und dem Grad der Niereninsuffizienz (82). Basierend auf Metaanalysen verschiedener Studien (83, 84), kann eine glomeruläre Filtrationsrate (GFR) von etwa 30 ml/min als Cut-off-Wert angesehen werden, ab dem eine Anpassung der Dosis auf Grundlage der Ergebnisse des Monitorings zu empfehlen ist.



Nach Erfahrungen von Experten (82) hat sich eine Dosisreduktion um 25-30% bei einem aXa-Level von  $>1,5$  IE/ml als sinnvoll erwiesen.

In der vorliegenden Studie konnten keine erhöhten aXa-Werte bei niereninsuffizienten Patienten als Hinweis auf eine Akkumulation beobachtet werden.

Um den Verdacht einer Medikamentenanhäufung genauer zu überprüfen, hätte hier laut Baglin *et al.* (16) eine Bestimmung des Talspiegels hilfreich sein können.

## 5.2 Probleme beim Monitoring

Im Folgenden soll auf die bestehenden Probleme beim Monitoring unter Berücksichtigung der vorliegenden Untersuchungsergebnisse näher eingegangen werden.

### 5.2.1 Geringe Standardisierung der Präanalytik

#### 5.2.1.1 Abnahmezeitpunkt

Um vergleichbare Ergebnisse zu erhalten und diese richtig interpretieren zu können, ist der Zeitpunkt der Blutentnahme im Verhältnis zur Gabe des Gerinnungshemmers von großer Bedeutung (28, 48).

Es wird empfohlen, die Probe zum Zeitpunkt des maximalen Wirkspiegels des Medikaments zu entnehmen. Dieser liegt für NMH bei 3-4 Stunden nach subkutaner Injektion (1, 12, 16, 28, 47, 85, 86), für Danaparoid bei 4-5 Stunden (3, 28).

In der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass dieser Anspruch nur selten erfüllt wird: Im gewünschten Zeitraum lagen < 5% der untersuchten Proben, bei über 50% war die Zeitspanne zwischen Medikamentengabe und Blutentnahme größer.

Im klinischen Alltag scheint es schwierig zu sein, die Anforderungen an den Abnahmezeitpunkt zu erfüllen. Das zeitliche Fenster hierfür ist bei der angestrebten Spitzenspiegel-Bestimmung mit etwa 2 Stunden relativ eng.

Um dennoch ein aussagekräftiges Monitoring im Sinne von Akkumulationsvermeidung zu erreichen, kann die Messung des Talspiegels sinnvoll sein. Die hierfür geeignete Zeitspanne zur Blutentnahme ist größer, sodass die Umsetzung auch im Klinikalltag zu organisieren sein sollte.

In den Leitlinien des British Committee for Standards in Haematology von 2006 (16) wird eine solche Talspiegel-Messung 24 Stunden nach der letzten Medikamentengabe empfohlen.

#### 5.2.1.2 Vorbereitung der Proben und Messbedingungen

In den vorliegenden Ergebnissen zeigt sich eine bessere Übereinstimmung von PiCT mit aXa Biophen als mit aXa Behring.

Eine mögliche präanalytische Ursache dafür könnte sein, dass die Proben vor Durchführung der Tests aXa Biophen und PiCT zentrifugiert und eingefroren wurden. Bei der Messung mit aXa Behring könnte eine stärkere Thrombozytenverunreinigung bestanden haben, welche die Ergebnisse beeinflussen würde. Beim Globaltest PiCT würde dies größere Auswirkungen zeigen als bei aXa Biophen (50).

Das Einfrieren sollte laut Expertenmeinung (31, 87, 88) keine relevante Verfälschung der Gerinnungstests bewirken.

Weiterhin wurden die Bestimmungen mit PiCT und aXa Biophen in einem anderen Labor (Kooperation mit Fa. Pentapharm, Basel, Schweiz) durchgeführt als aXa Behring. Es könnten bei diesen Tests daher andere Messbedingungen vorgelegen haben, die die Ergebnisunterschiede erklären könnten. So besteht z.B. laut Fiebig *et al.* (89) schon eine wesentliche Diskrepanz, wenn Probenröhrchen unterschiedlicher Hersteller verwendet werden.

## **5.2.2 Geringe Standardisierung der Tests**

### **5.2.2.1 Kalibration**

Um standardisierte Messbedingungen schaffen zu können, müssen die Tests entsprechend dem verwendeten Medikament kalibriert werden.

Hierfür kommt bei NMH heparinisiertes Normalplasma zur Anwendung, das gegen den 2. Internationalen Standard für niedermolekulare Heparine kalibriert ist. Da sich heute alle zugelassenen Präparate darauf beziehen, sind für die einzelnen NMH keine Eichkurven mehr erforderlich (28).

Zur Bestimmung der aXa-Einheiten bei Gabe von UFH, kann die Kalibrierung mit dem 5. Internationalen Standard für unfraktionierte Heparine erfolgen (28).

Die Studien zur Evaluierung des Monitorings von NMH (v.a. Phase IV-Studien) wurden zu einem großen Teil in den 90er Jahren durchgeführt. Zu dieser Zeit standen jedoch keine standardisierten Kalibratoren zur Verfügung. Die Labore verfügten über eigene Referenzkurven auf Grundlage selbst angefertigter Verdünnungsreihen, die je nach verwendetem Medikament, Reagenz,

Instrumentarium etc. sehr unterschiedlich sein konnten (persönliche Kommunikation Dr. Peetz).

Die Ergebnisse der Studien, auf denen die heutigen Empfehlungen für die Therapie mit NMH basieren, sind also genau genommen nur begrenzt vergleichbar, da bei diesen Untersuchungen keine einheitlichen Testbedingungen vorlagen.

In den vergangenen Jahren zeigten immer wieder Studien (49), dass signifikant unterschiedliche aXa-Levels für die gleichen Proben gemessen wurden. Favaloro *et al.* (40) konnten bei ihrer Untersuchung mit 70 Labors, die Monitoringtests für UFH und NMH anbieten, bei der gleichen Probe Werte von 0,01-0,90 IE/ml aXa feststellen. Dies könnte auf dem Einfluss der verschiedenen Instrumente, der unterschiedlichen anti-Faktor IIa-Aktivität der NMH oder den verwendeten Standards zur Kalibrierung beruhen (90). Auch Kitchen *et al.* (7) erklären in ihrer vielzitierten Arbeit über die Unterschiedlichkeit der Ergebnisse verschiedener aXa-Tests bei gleicher Probe, dass eine Ursache für die Unterschiedlichkeit der Ergebnisse die Verwendung verschiedener Heparine zur Kalibrierung sein könnte.

Jedoch scheint die geringe Vergleichbarkeit zwischen den kommerziell verfügbaren aXa-Tests auch unter Verwendung des gleichen internationalen Standards zur Kalibration zu bestehen (7, 39).

#### 5.2.2.2 Reagenzien

Ein Grund für die Ergebnisunterschiede der aXa-Tests könnte in den verwendeten Reagenzien selbst liegen.

Bei manchen Tests, so auch bei dem in der vorliegenden Untersuchung angewendeten Verfahren aXa Behring, wird AT zugesetzt, um die pharmakologisch wirksame Heparinaktivität unabhängig vom realen AT-Spiegel der Probe zu bestimmen (91). Die Medikamentenkonzentration repräsentiert hier nicht die funktionelle Antwort beim Patienten, sondern das gesamte aXa-Potential der Probe (52). Dies kann jedoch bei Patienten mit AT-Mangel zu einer Fehlinterpretation der Messwerte im Sinne einer Überschätzung der Heparinwirkung führen (28).

Des Weiteren beinhaltet das aXa-Kit von Behring einen PF 4-Neutralisator (Dextransulfat), der den Komplex zwischen Heparin und PF 4 löst. Somit liegt in der Probe mehr ungebundenes Heparin vor als *in vivo*. Auch dadurch könnte die gerinnungshemmende Aktivität zu hoch eingeschätzt werden (28, 91). Die fällt vor

allem bei Proben ins Gewicht, die durch Thrombozyten verunreinigt sind, da diese PF 4 freisetzen (50).

In der Literatur lassen sich bei einer Studie von Raivio *et al.* (50), die zwei aXa-Methoden und PiCT vergleicht, ähnliche Unterschiede bei den Testergebnissen finden wie in der vorliegenden Untersuchung. Als mögliche Begründung wird der Zusatz von Dextransulfat bei einem der aXa-Tests aufgeführt.

### 5.2.2.3 Messprinzip

Die unterschiedlichen Ergebnisse von aXa und PiCT können ihre Ursache weiterhin im zugrunde liegenden Messprinzip haben: Während PiCT als gerinnungsbasierter Test eine globale Bewertung der Gerinnungsfunktion liefert, wird bei den chromogenen aXa-Verfahren die Funktion spezifischer Faktoren gemessen (92).

#### Einflussfaktor Faktorenmangel:

Um die Gerinnungsaktivität richtig abzubilden, setzt das globale Verfahren voraus, dass die gesamte Kaskade der Gerinnungsfaktoren intakt ist. Ein Mangel an Gerinnungsfaktoren, wie er z.B. durch eine Operation, durch Hepatopathie (88) oder durch VKA hervorgerufen werden kann (39, 93, 94), würde somit die PiCT beeinflussen und zu einer Unterschätzung des gerinnungshemmenden Effekts führen (52).

Da diese klinischen Situationen (z.B. eine überlappende Therapie von Heparinen und VKA zur Umstellung von parenteraler auf orale Antikoagulation) nicht selten sind, ist bei der Interpretation der Ergebnisse eines Gerinnungstests grundsätzlich die gesamte Klinik des Patienten inklusive Komedikation zu berücksichtigen.

Nach den Ergebnissen einer Studie von Fenyvesi *et al.* (35) besteht der Einfluss von VKA auf die PiCT jedoch nur im Bereich von mittleren und hohen Plasmakonzentrationen.

Auch sollen Faktorenschwankungen weniger Einfluss auf die PiCT-Methode haben als auf andere globale Gerinnungstests (z.B. aPTT), da die Gerinnung bei PiCT auf niedrigerer Stufe aktiviert wird (9).

Bei der vorliegenden Studie ließ sich beobachten, dass vor allem im Bereich hoher Konzentrationen die Differenzen der Messwerte zwischen PiCT und den aXa-Methoden zunehmend größer wurden.

Zum Einen könnte dies in den verschiedenen Messprinzipien begründet sein.

Zum Anderen scheint PiCT nach den Ergebnissen einer Studie von Jessen *et al.* (58) zu urteilen, im Bereich hoher NMH-Konzentrationen keine zuverlässigen Werte zu liefern.

Auch ist es denkbar, dass die Proben mit den hohen Konzentrationen von Patienten stammen, die aufgrund einer schweren Krankheit (Leberschaden, großer Blutverlust etc.) einen Faktorenmangel oder eine erniedrigte Heparinempfindlichkeit aufweisen, was einen deutlichen Einfluss auf PiCT, jedoch nicht unbedingt auf die aXa-Verfahren haben könnte. Da auch Patienten der Herz-Thorax-Gefäßchirurgie in die Studie eingeschlossen wurden, könnten bei diesen Patienten im Zusammenhang mit bei extrakorporaler Zirkulation verabreichtem Protamin laut Herstellerangaben erniedrigte PiCT-Werte auftreten.

#### Einflussfaktor anti- Faktor IIa-Aktivität:

Als globaler Gerinnungstest wird PiCT im Gegensatz zu aXa auch von der anti-Faktor IIa-Aktivität (alla) des verwendeten Antikoagulans beeinflusst (85).

Da jedes NMH eine charakteristische aXa/ alla-Ratio aufweist (28), könnte dies je nach verwendetem Medikament zu Unterschieden in den Messergebnissen führen.

Kitchen *et al.* (7) zweifeln jedoch an einem Einfluss der NMH-vermittelten alla auf den Gerinnungstest. Sie erklären, dass 4-6 Stunden nach Injektion des Antikoagulans keine relevante alla mehr in der abgenommenen Probe zu finden sein dürfte, da die langkettigen NMH-Anteile mit der alla-Wirkung *in vivo* zwei Mal so schnell eliminiert werden als die kurzkettigen Anteile mit der aXa-Wirkung.

Dieser Meinung schließen sich Grey *et al.* (13) an.

Die Beeinflussung könnte aber auf das Heparin zurückzuführen sein, das zur Kalibrierung verwendet wurde. Durch die alle des Heparins könnte die Gerinnungszeit zur Bestimmung der Kalibrationskurve im Vergleich zur Probe verlängert sein. Dies würde somit zu einer systematischen Unterschätzung der gerinnungshemmenden Aktivität in der Plasmaprobe führen (7).

#### 5.2.2.4 Ansätze zur Verbesserung der Korrelation

In Zusammenschau all dieser Faktoren stellt sich die Frage, wie sich die Übereinstimmung zwischen den einzelnen Methoden verbessern lässt.

In einer kürzlich veröffentlichten Studie von Korte *et al.* (95) wurden unkalibrierte Ergebnisse der PiCT in [sec] bei der Gabe von UFH mit aXa-Werten in [IE/ml] verglichen. Es zeigte sich hierbei eine signifikant stärkere Übereinstimmung als beim Vergleich der Standardmethode aPTT mit aXa. Daher schlägt die Studiengruppe zum Monitoring der UFH-Therapie die Anwendung der PiCT vor und leitet für diese einen Zielbereich ab.

Auch bei NMH scheinen die PiCT-Ergebnisse in [sec] weniger Unterschiede zu den aXa-Werten in [IE/ml] zu zeigen als PiCT in [IE/ml] (95).

Daraus könnte man die Konsequenz ziehen, dass durch den Verzicht auf die Anpassung der Werte an aXa-Einheiten eine bessere Übereinstimmung der einzelnen Methoden erreicht werden könnte.

Die vorliegende Studie zeigt ähnliche Ergebnisse: So ergab eine nachträgliche Bestimmung der Korrelationskoeffizienten eine stärkere Übereinstimmung der Messwerte bei Verzicht auf Anpassung der PiCT-Ergebnisse an aXa-Einheiten (aXa Biophen [IE/ml] - PiCT [sec]:  $r = 0,91$ . aPTT [sec] - aXa Biophen [IE/ml]:  $r = 0,79$ ).

PiCT scheint zum Monitoring der UFH-Therapie gut geeignet zu sein.

Ein weiterer Punkt, der zur Verringerung der Methoden-Variabilität beitragen könnte, ist der Einfluss der Inkubationszeit auf die Messergebnisse.

Harder *et al.* (96) überprüften in ihrer Studie die Vermutung, dass während einer Inkubationszeit die AT-abhängige Inaktivierung von FXa unphysiologisch gefördert werde (97). Dies würde zu einer Überschätzung der gerinnungshemmenden Aktivität führen.

Tatsächlich zeigte PiCT ohne Inkubationszeit niedrigere Messwerte als beim klassischen Versuchsablauf. Aufgrund dieser Ergebnisse empfehlen die Autoren, zum Monitoring von direkten und indirekten FXa-Inhibitoren die PiCT-Bestimmung ohne Inkubationszeit durchzuführen (96).

Möglicher Weise lassen sich diese Ergebnisse auch auf andere Testmethoden übertragen und durch Verzicht auf die Inkubationszeit könnte eine bessere Übereinstimmung der Verfahren erreicht werden.

### **5.2.3 Geringe Standardisierung der Zielbereiche**

Ein weiteres Problem beim Monitoring der Heparin-Therapie stellt die postanalytische Interpretation der Messergebnisse dar.

Zur Überprüfung ihrer klinischen Bedeutung bedarf es klar definierter Grenzwerte, die eine Unter- oder Überdosierung anzeigen. Ohne diese Grundlage können aus den Messwerten keine therapeutischen Entscheidungen getroffen werden.

Da PiCT ein relativ neues Verfahren ist, liegen bisher noch keine klinischen Studien vor, die die Zielbereiche für die Anwendung bei niedermolekularen Heparinen und Heparinoiden definieren.

Auch für die angestrebten Bereiche bei der aXa-Bestimmung finden sich in der Literatur bisher nur sehr unterschiedliche Angaben.

#### **5.2.3.1 Keine einheitlichen Zielbereiche**

Bei der Anwendung von NMH sollten die aXa-Level nach Meinung von Hirsh *et al.* (12, 41) in einem Bereich zwischen 0,5 und 1,0 IE/ml liegen. Dem hingegen sind laut



Boneu und Moerloose (85) und Laposata *et al.* (98) aber Werte über 1,0 IE/ml anzustreben.

Vom Institut für klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz wurden zum Zeitpunkt der Datenerhebung Normwerte für die ermittelte anti-Faktor Xa-Aktivität von 0,4 bis 0,8 IE/ml bei intravenöser Anwendung von Dalteparin angegeben. Auch bei Kitchen *et al.* (7) bewegen sich die Zielwerte in diesem Bereich.

Zur Undurchsichtigkeit trägt weiterhin bei, dass manche Autoren die empfohlenen Bereiche nach Anwendung des Medikaments in „prophylaktisch“ und „therapeutisch“ unterteilen (1, 14). Andere unterscheiden die Zielbereiche nach Häufigkeit der Medikamentengabe (1x /Tag bzw. 2x /Tag) (85, 99) oder verabreichtem NMH (85, 100).

Für Danaparoid liegen nur wenige Empfehlungen vor, weshalb sich hier ein einheitlicheres Bild zeigt: Alle angegebenen Zielbereiche der aXa liegen zwischen 0,5 und 0,8 E/ml (27, 101, 102). Auch der Normwert des Instituts für klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz liegt mit 0,5 bis 0,7 E/ml in diesem Bereich.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen teilweise Differenzen zwischen den Messwerten der PiCT und der aXa-Tests, die die Spannbreite des angegebenen therapeutischen Bereichs übertreffen. In der klinischen Anwendung könnten diese Unterschiede zu Dosisänderungen laut der Einen, aber nicht der anderen Methode führen.

Werden auf Grundlage der Testergebnisse falsche therapeutische Entscheidungen getroffen, kann dies schwere Folgen für den Patienten haben.

Um dies zu vermeiden, sollten die Zielbereiche methoden- und instrumentenspezifisch sein (49).

Zudem sind die therapeutischen Bereiche nicht auf alle NMH zugleich übertragbar. Hirsh *et al.* (12) haben gezeigt, dass die gleiche Dosis zweier verschiedener NMH zu unterschiedlichen aXa-Plasmalevels führt. So können Werte, die bei dem einen Präparat noch im Zielbereich liegen, bei dem Anderen schon eine Überdosierung sein. Ein gemeinsamer Zielbereich wäre daher eine zu starke Vereinfachung der Realität (12).

Auch andere Studiengruppen (71, 85) kommen zu diesem Ergebnis und fordern daher, spezifische Zielbereiche für jedes NMH festzulegen.

Neben der unzureichenden Validierung und Spezifität der Zielbereiche ist auch ihre Bedeutung für die Einschätzung des Komplikationsrisikos beim Patienten weiter unklar.

### 5.2.3.2 Unklare Beziehung zu klinischem Outcome

Nur wenige Studien mit limitierter Patientenzahl zeigen ein aXa-abhängiges Blutungsrisiko (15, 103, 104). So ließ sich z.B. bei Nieuwenhuis *et al.* (15) ein Anstieg des Blutungsrisikos bei aXa-Werten über 1,0 IE/ml beobachten. Dennoch halten diese Autoren den klinischen Status des Patienten und die verabreichte Dosis für informativer.

Zahlreiche andere Untersuchungen konnten keine Korrelation zwischen gemessenem aXa-Spiegel und dem Auftreten von Blutung aufweisen (8, 105–112).

In einer Studie von Bara *et al.* (51) ließ sich der fehlende Zusammenhang zwischen Blutungskomplikationen und Messwerten neben der aXa- und alla-Bestimmung auch für die Werte der aPTT-Messung feststellen. Auch Eikelboom *et al.* (29) bemängeln das Fehlen eines Grenzwertes für die aPTT, ab dem das Blutungsrisiko erwiesenermaßen ansteigt.

Für die Therapie mit Danaparoid ist der Zusammenhang zwischen aXa-Level und Outcome bisher ebenfalls unbestätigt (26).

Bei den aufgeführten Studien ist zu beachten, dass der Faktor „Blutung“ nicht einheitlich definiert ist (113). Somit ist die Vergleichbarkeit der Ergebnisse und ihre Interpretation unklar. Das Auftreten einer Blutung bei der einen Studie könnte bei der Anderen noch als „keine Blutung“ gewertet worden sein.

So lange der Zusammenhang zwischen aXa-Level und klinischem Outcome nicht geklärt ist, kann laut Hammerstingl *et al.* (114) keine sichere Empfehlung über den Nutzen des Monitorings gegeben werden.

## 5.3 Schlussfolgerungen

### 5.3.1 Anwendung aXa-Tests

Schließlich lässt sich sagen, dass sich die aXa-Bestimmung trotz aller genannten Nachteile und Beschränkungen im klinischen Gebrauch als geeignet zur Erfassung einer Medikamentenkumulation erwiesen hat.

Wie schon an früherer Stelle erwähnt, kann zur Therapiekontrolle in Anbetracht fehlender therapeutischer Zielbereiche eine Talspiegelmessung durchgeführt werden.

Eine große Überdosierung könnte aber auch an sehr hohen aXa-Levels erkannt werden. So hat laut Schinzel (82) die Erfahrung gezeigt, dass bei Spiegeln  $>1,5$  IE/ml mit dem Auftreten einer Blutung gerechnet werden muss und eine Dosisreduktion evtl. anzuraten ist.

Im Gegensatz zur Behandlung mit Heparinen basiert die Dosisanpassung bei der VKA-Therapie mit Hilfe der INR auf konsistenten Ergebnissen randomisierter Studien (10). So lange dies nicht für die aXa-Bestimmung erreicht ist, sind die o.g. Werte nur als empirisch richtungsweisend anzusehen. Die Durchführung weiterer Studien zur Validierung der Erfahrungswerte ist daher von großer Wichtigkeit.

Letztlich ist somit zur Entscheidung, ob eine Dosisanpassung vorgenommen wird, immer das klinische Gesamtbild des Patienten entscheidend. Das individuelle Risikoprofil des Patienten in Zusammenspiel mit der Komedikation muss neben Informationen zur Präanalytik zur Interpretation der Testergebnisse beachtet werden.

Eine Entscheidung zur Therapieänderung schließt immer auch rechtliche Aspekte mit ein, da die Behandlung des Patienten in der Regel gemäß den Fachinformationen durchgeführt wird. Eine Dosisreduktion entgegen den bestehenden Empfehlungen ist nur aufgrund eines Testergebnisses über dem Normwert nicht zu rechtfertigen, v.a. wenn der Patient klinisch keine Anzeichen für eine Komplikation zeigt.

### 5.3.2 Bedingungen für sinnvolles Monitoring

Aus den geschilderten Fakten lassen sich Bedingungen für ein sinnvolles Monitoring ableiten.

Laut Kassai *et al.* (115) sollte ein adäquater Surrogatstest folgende Kriterien erfüllen:

- gute Präzision
- gute Standardisierung für Labore und Reagenzien
- gut definierte und vorzugsweise lineare Beziehung zu klinischem Outcome (hier: Thrombose bzw. Blutung)
- leicht verfügbar, kostengünstig

Um als geeignete Monitoring-Methode zu fungieren, ist eine Verbesserung der aXa-Verfahren und PiCT in verschiedenen Punkten notwendig.

#### 5.3.2.1 Bessere Standardisierung

Für den aXa-Test wie auch die PiCT ist eine bessere Standardisierung anzustreben zur Steigerung der Genauigkeit, Vergleichbarkeit und des klinischen Nutzens (16).

Nach einer aktuellen Veröffentlichung von Enderl *et al.* (116) liegt bei 75% der fehlerhaften Testresultate die Ursache in präanalytischen Problemen. In der hämostaseologischen Diagnostik ist die Fehlerrate besonders hoch, da die Präanalytik hier so komplex ist (117).

Besonders zu beachten ist hierbei der Blutentnahmezeitpunkt in Beziehung zur Verabreichung des Antikoagulans (20).

Zudem sollten immer Informationen vorliegen, welcher Gerinnungshemmer angewendet wird und ob eine relevante Komedikation besteht, da dies einen direkten Einfluss auf die Methodik und Kalibration hat. So haben z.B. die neuen Antikoagulantien erheblichen Einfluss auf globale Gerinnungstests wie die PiCT und können diese z.T. massiv verändern (118).

Zur Standardisierung tragen Richtlinien, z.B. der Bundesärztekammer oder der Groupe d'Etude sur l'Hémostase et la Thrombose, bei. Da diese für Routine-Gerinnungstests aufgrund der Probenzahl schwer umzusetzen sind, empfehlen

Endler *et al.* (116), dass jedes Labor praktikable Präanalytik-Richtlinien für die Einsender verfasst.

In Hinblick auf die zunehmende Globalisierung der pharmazeutischen und medizindiagnostischen Industrie gewinnt die Standardisierung der Tests weiter an Wichtigkeit.

Die Anpassung der Referenzmaterialien an genetische Polymorphismen wird in Zukunft eine immer größere Rolle spielen, da sich die kombinierten Effekte von Umwelt und multiplen genetischen Faktoren zusehends als wichtige Risikofaktoren für das Auftreten einer Thrombose abzeichnen (119, 120).

#### 5.3.2.2 Besser definierte Beziehung zu klinischem Outcome

Wie ausführlich besprochen, ist die die Beziehung zum klinischen Outcome des Patienten für die aXa-Bestimmung als auch für die PiCT-Methode bisher noch unklar (113).

Die bestehenden Zielbereiche sind uneinheitlich und umstritten, da sie nicht hinreichend in großen Untersuchungen validiert wurden (121).

Zur Festlegung spezifischer Zielbereiche und der Klärung ihrer klinischen Bedeutung sind weitere Studien notwendig, die den Endpunkt „Blutung“ bzw. „Thrombose“ als Betrachtungsgegenstand haben (8).

Es ist jedoch fraglich, ob sich solche Studien zur Verbesserung des Monitorings der NMH aktuell noch finanzieren lassen, da die Substanzen schon zugelassen sind und wohl nur eine Pharmafirmen-unabhängige Finanzierung denkbar wäre.

Bei den Zulassungsstudien der NMH war das Hauptaugenmerk der Hersteller auf der Betonung der Sicherheit dieser Präparate auch ohne Monitoring gerichtet. Dies machte die Anwendung der NMH so attraktiv, weil einfach und sicher zugleich.

Die Hersteller machen infolgedessen auch keine genauen Angaben zu den zu erwartenden aXa-Werten, insbesondere bei schwierigen klinischen Voraussetzungen. In den Produktinformationen fehlen nähere Angaben zu Methoden, Ziel- und Referenzbereichen meist gänzlich (72).

Dass eine Therapieüberwachung dennoch in machen Fällen indiziert ist, hierfür jedoch nur umstrittene Testmethoden zur Verfügung stehen, steht daher im Gegensatz zur ursprünglichen Intention der Anwendung ohne Monitoring.

Darüber hinaus stellt sich weiterhin die Frage, ob die Festlegung eines sicheren Zielbereichs sinnvoll ist (98). Es bestehen Zweifel, ob eine realistische Einschätzung des Blutungsrisikos auf Grundlage der aXa-Werte überhaupt möglich ist.

Die NMH scheinen einen komplexeren gerinnungshemmenden Effekt zu haben, als über die aXa-Bestimmung abgebildet wird (8). Es wird angenommen, dass zusätzlich zur AT-abhängigen Wirkung der NMH die Freisetzung des tissue factor pathway inhibitors (TFPI) eine große Rolle spielen könnte, der ein starker Inhibitor des prokoagulatorischen tissue factors (TF) ist (3, 122, 123).

Der Einfluss dieses Faktors wird bei der Gerinnungsmessung im Labor nicht beachtet, da TFPI vom Endothel freigesetzt wird, die Gerinnung aber *in vitro* initiiert wird.

Dies verdeutlicht die Komplexität des plasmatischen Gerinnungssystems und es stellt sich die Frage, ob die wirkliche Gerinnungswirkung *in vivo* mit gegenwärtig verfügbaren Testsystemen überhaupt abgebildet werden kann (124).

Aufgrund dessen zieht Hammerstingl (8) den Schluss, dass die Bestimmung der aXa für den klinischen Routinegebrauch nicht empfohlen werden kann, da die Ergebnisse fehlerleitend sein könnten.

Da die PiCT zwar einige vielversprechende Vorteile, z.B. bezüglich Präzision und Reproduzierbarkeit (50, 57), bietet, aber noch weitere klinische Studien zur besseren Evaluierung durchgeführt werden müssen, ist auch dieses Verfahren bisher nicht für die klinische Routine zu empfehlen (8).

Dennoch besteht zwischen den Experten ein Konsens, dass zwar die Prophylaxe der Thrombose kein Monitoring benötigt, die Therapie für mache Patientengruppen hingegen schon. Dies führt weiterhin zu der Entscheidung, welcher Test verwendet werden soll (6).

### 5.3.3 Alternative Monitoring-Methode

Einige Experten bevorzugen zum Monitoring der antikoagulatorischen Therapie einen gerinnungsbasierten Test, da sie hier eine größere physiologische Relevanz erwarten als bei der Messung der enzymatischen Aktivität gegenüber einem künstlichen Substrat (125).

Hemker *et al.* (53) vertreten die Meinung, dass es besser wäre, nicht das Molekül, sondern den Effekt eines Medikaments zu messen. Vor allem, da eine große interindividuelle Variation in der Antwort des Gerinnungssystems auf Heparin besteht, ist die Messung der Heparinwirkung der Heparinkonzentration vorzuziehen.

Auch bei der Thrombinbildung scheint es Unterschiede zwischen den Individuen zu geben. Für eine an den Patienten angepasste Behandlung einer Blutungsstörung oder Thromboseneigung ist daher nach Ansicht von van Veen *et al.* (126) ein Gerinnungstest auf Basis einer globalen Hämostase-Antwort sinnvoll.

Bei den aXa-Verfahren wird durch die *in vitro*-Messung in thrombozytenfreiem Plasma der physiologische Einfluss von Thrombozyten, Thrombinbildung und Zelloberflächen auf die Hämostase nicht beachtet. In Hinblick darauf, dass in neueren Gerinnungsmodellen die Thrombinwirkung zunehmend als zentrale Komponente der Hämostase angesehen wird (127), sprechen sich Brophy *et al.* (128) für eine Gerinnungsprüfung in Vollblut aus.

Einige Studiengruppen haben als Marker für effektive gerinnungshemmende Aktivität die NMH-abhängige Inhibition der Thrombin generation time (TGT) untersucht.

Diese ist definiert als die Geschwindigkeit, mit der Thrombin im Vollblut gebildet wird. Dies wird über die Kinetikkurve der platelet contractile force (PCF), einem Maß für die Thrombozytenfunktion, festgestellt. PCF ist absolut thrombinabhängig, daher ist der erste Anstieg der PCF mit dem Moment der Thrombinproduktion gleichzusetzen; PCF wird hier also als Surrogatparameter der Thrombingenerierung genutzt. Der Normwert der TGT liegt bei 4-8 min (127).

Ein Vorteil dieses Verfahrens ist zum Einen seine schnelle Durchführbarkeit.

Da die TGT im Vollblut gemessen wird, ist es nicht notwendig, vor der Analyse Plasma und Zellen zu trennen. Die TGT eignet sich daher auch zur near-patient-Testung (127).

Weiterhin ermöglicht dieses Verfahren eine globale Evaluierung der Gerinnungsfunktion durch die Kombination von TGT und PCF und kann somit eine detaillierte Analyse der kritischen Interaktion zwischen Thrombin und Thrombozyten liefern (127).

Die Studiengruppe um Brophy *et al.* (129, 130) konnte zeigen, dass die TGT zum Monitoring der NMH geeignet ist. Die Anwendung dieser Methode in der klinischen Praxis bleibt aber unklar. Die Daten beweisen nicht, dass die TGT besser ist als der Gold-Standard, die aXa-Messung (8).

Somit muss die Rolle der TGT in großen Studien mit unterschiedlichen Patientenpopulationen und verschiedenen NMH erst noch geklärt werden (8). Da auch die Aussagekraft bezüglich des Auftretens von Komplikation wie Blutungen oder Thrombosen bisher nicht ausreichend bewiesen ist, kann die Anwendung der TGT bei der Gerinnungstestung vorerst nicht empfohlen werden (126).

Dennoch hat die TGT, da jedes Antikoagulans letztlich auf die Inhibierung der Thrombinbildung ausgerichtet ist, das Potential, künftig ein wichtiger klinischer Monitoringparameter zu werden (131).

#### **5.3.4 Ausblick**

In Hinblick auf die neuen Antikoagulantien gewinnt die Frage nach einem adäquaten Monitoring an Aktualität.

Fondaparinux ist als selektiver und reversibler FXa-Inhibitor der erste Vertreter einer neuen Klasse von Antikoagulantien.

Zudem ist Fondaparinux der erste spezifisch wirkende Arzneistoff auf der Basis eines strukturell definierten, synthetischen Oligosaccharids (3). Mit der Entwicklung dieses Präparats ist ein entscheidender Schritt in Richtung Effektivität und Sicherheit gelungen (1).

Oral verabreichbare direkte FXa- (DXI) und FIIa-Inhibitoren (DTI) mit verbesserten pharmakologischen Profilen im Vergleich zu VKA und Heparin befinden sich gegenwärtig in klinischer Entwicklung (55):



Die beiden deutschen Entwicklungen Dabigatranetexilat (DTI) und Rivaroxaban (DXI) und weitere Präparate haben nach Expertenmeinung (3) die Chance, einen Paradigmenwechsel in der medikamentösen Antikoagulation herbei zu führen.

Obwohl durch die fix-dose-Verabreichung bei Fondaparinux kein Monitoring erforderlich ist (10), und dies laut klinischen Studien (132, 133) auch für DXI gilt, gibt es Gründe, warum auch für diese Medikamente ein spezifischer Gerinnungstest verfügbar sein sollte (96).

Zum Einen besteht auch bei den neuen Antikoagulantien die Gefahr einer Überdosierung mit möglichen lebensbedrohenden Komplikationen. Hier ist die Verfügbarkeit einer adäquaten Monitoring-Methode deshalb so wichtig, weil für die neuen Gerinnungshemmer bisher keine adäquaten Antidots zur Verfügung stehen (2, 3).

Zum Anderen kann es beim Wechsel auf ein anderes gerinnungshemmendes Medikament zu Überlappungen kommen, aus denen unvorhersehbare Effekte resultieren können (96).

Die Möglichkeit einer oralen Verabreichung erleichtert die Anwendung des Medikaments entschieden, jedoch ist die Therapie somit von der Compliance des Patienten abhängig. Es sollte möglich sein, diese mit einem Gerinnungstest zu kontrollieren (134).

Die neuen Präparate werden nicht zuletzt deshalb entwickelt, um als orale Antikoagulantien eine Alternative zu den VKA zu bieten. Sie sollen geeignet sein, über einen längeren Zeitraum, vielleicht lebenslang, Prophylaxe zu bieten. Eventuell werden sich die Komplikationen dieser Medikamente im klinischen Gebrauch daher als schwieriger erweisen als durch die bisherigen Erfahrungen aus klinischen Studien erwartet (6).

Somit ist es also gerade auch in Hinblick auf die künftig eingesetzten gerinnungshemmenden Medikamente unabdingbar, dass eine geeignete Methode zum Monitoring der antikoagulatorischen Behandlung verfügbar ist.

Es ist daher notwendig, dass neue Tests entwickelt und validiert werden, die zuverlässig abbilden, was *in vivo* passiert.

Diesbezüglich erscheint die TGT laut Tripodi *et al.* (6) als meistversprechender Kandidat, da sowohl die neueren als auch die gebräuchlichen Antikoagulantien letztlich darauf abzielen, die Thrombinwirkung zu vermindern.

## 6 Zusammenfassung

Gegenstand der vorliegenden Studie war die Evaluierung der Prothrombinase-induzierten Gerinnungszeit (PiCT) für ihre Anwendung beim Monitoring der Gerinnungshemmung mit niedermolekularen Heparinen und Heparinoiden.

Untersucht wurden 175 Proben von 102 Patienten beiderlei Geschlechts. Der Einfluss der Faktoren Schwangerschaft, Adipositas und Niereninsuffizienz auf die Ergebnisse der verglichenen Methoden wurde hierbei genauer betrachtet.

Beim Vergleich der aXa-Verfahren und PiCT ließen sich teilweise große Ergebnisunterschiede feststellen.

Eine Erklärung hierfür könnte in der Verschiedenheit präanalytischer Prozesse (z.B. unterschiedliche Messbedingungen) liegen. Um vergleichbarere Ergebnisse zu erzielen, ist daher eine bessere Standardisierung anzustreben.

Als weiterer Grund für die Differenzen wurde die Unterschiedlichkeit der Verfahren hinsichtlich der verwendeten Reagenzien und verschiedenen Messprinzipien genauer beleuchtet. Diesbezüglich wurde als Ansatz zur Verbesserung der Methodenkorrelation z.B. eine Verringerung der Inkubationszeit vorgeschlagen.

Zusammenfassend hat sich die PiCT aber, auch in den Risikogruppen, als brauchbare Alternative zur aXa-Bestimmung beim Monitoring der untersuchten Antikoagulantien erwiesen.

Vor allem bei der Antikoagulation mit UFH scheint dieses Verfahren gewisses Potential zu haben, die gängigen Tests ersetzen zu können.

So beinhaltet die PiCT wohl neben einer guten Präzision und Reproduzierbarkeit auch den Vorteil, dass sie als gerinnungsbasierter Test ein physiologischeres Bild der Gerinnungsprozesse liefern kann als die aXa-Bestimmung.

Zur Evaluierung der klinischen Anwendbarkeit sind jedoch weitere Studien erforderlich. Besonders auf die Aussagekraft des Tests bezüglich des Auftretens von Komplikationen sollte hierbei eingegangen werden.

Auch bei den aXa-Verfahren besteht letztlich noch die Frage, ob eine realistische Einschätzung zum klinischen Outcome des Patienten überhaupt möglich ist.

In Anbetracht der Komplexität des Gerinnungssystems und auch in Hinsicht auf die künftig verwendeten Antikoagulantien wäre eine Monitoring-Methode, die den Effekt der Medikamente *in vivo* vollständiger abbildet eine geeignetere Alternative.

Eine solche Methode könnte die vorgestellte Thrombingenerierungszeit (TGT) sein.

Doch ob diese die „Antwort auf alle Fragen“ beim Monitoring der antikoagulatorischen Therapie darstellt, bleibt abzuwarten. Auch hier werden weitere klinische Studien den Nutzen und die Bedeutung dieses Tests beweisen müssen.

## 7 Literaturverzeichnis

- (1) Blann AD, Khoo CW. The prevention and treatment of venous thromboembolism with LMWHs and new anticoagulants. *Vasc Health Risk Manag.* 2009; 5: 693–704.
- (2) Weitz JI, Hirsh J, Samama MM. New antithrombotic drugs: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest.* 2008; 133(6 Suppl): 234S-256S.
- (3) Alban S. Pharmakologie der Heparine und der direkten Antikoagulanzen. *Hamostaseologie.* 2008; 28(5): 400–20.
- (4) Crowther MA, Warkentin TE. Bleeding risk and the management of bleeding complications in patients undergoing anticoagulant therapy: focus on new anticoagulant agents. *Blood.* 2008; 111(10): 4871–9.
- (5) Langer E, Ziemer S. [Established anticoagulants in secondary haemostasis-- Vitamin K antagonists, heparins]. *Hamostaseologie.* 2009; 29(3): 241–6.
- (6) Tripodi A, van den Besselaar A. Laboratory monitoring of anticoagulation: where do we stand? *Semin Thromb Hemost.* 2009; 35(1): 34–41.
- (7) Kitchen S, Lampietro R, Woolley AM, Preston FE. Anti Xa monitoring during treatment with low molecular weight heparin or danaparoid: inter-assay variability. *Thromb Haemost.* 1999; 82(4): 1289–93.
- (8) Hammerstingl C. Monitoring therapeutic anticoagulation with low molecular weight heparins: is it useful or misleading? *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem.* 2008; 6(4): 282–6.
- (9) Calatzis A, Spannagl M, Gempeler-Messina P, Kolde HJ, Schramm W, Haas S. The prothrombinase-induced clotting test: A new technique for the monitoring of anticoagulants. *Haemostasis.* 2000; 30(Suppl. 2): 172–4.
- (10) Hirsh J, Bauer KA, Donati MB, Gould M, Samama MM, Weitz JI. Parenteral anticoagulants: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest.* 2008; 133(6 Suppl): 141S-159S.
- (11) Hirsh J. Heparin. *N Engl J Med.* 1991; 324(22): 1565–74.
- (12) Hirsh J, Warkentin TE, Shaughnessy SG, Anand SS, Halperin JL, Raschke R et al. Heparin and low-molecular-weight heparin: mechanisms of action, pharmacokinetics, dosing, monitoring, efficacy, and safety. *Chest.* 2001; 119(1 Suppl): 64S-94S.

- (13) Gray E, Mulloy B, Barrowcliffel TW. Heparin and low-molecular-weight heparin. *Thromb Haemost.* 2008; 99(5): 807–18.
- (14) Bates SM, Greer IA, Pabinger I, Sofaer S, Hirsh J. Venous thromboembolism, thrombophilia, antithrombotic therapy, and pregnancy: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest.* 2008; 133(6 Suppl): 844S-886S.
- (15) Nieuwenhuis HK, Albada J, Banga JD, Sixma JJ. Identification of risk factors for bleeding during treatment of acute venous thromboembolism with heparin or low molecular weight heparin. *Blood.* 1991; 78(9): 2337–43.
- (16) Baglin T, Barrowcliffe TW, Cohen A, Greaves M, the British Committee for Standards in Haematology. Guidelines on the use and monitoring of heparin. *Br J Haematol.* 2006; 133(1): 19–34.
- (17) Glusa E, Pindur G. Pharmakologie der Hämostase- antithrombotische und blutstillende Therapie. In: Aktories K, Förstermann U, Hofmann F, Starke K, Hrsg. Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie: Für Studenten der Medizin, Veterinärmedizin, Pharmazie, Chemie und Biologie sowie für Ärzte, Tierärzte und Apotheker ; mit 303 Tabellen; Begründet von W. Forth, D. Henschler, W. Rummel. 9., völlig überarbeitete Auflage. München: Elsevier Urban & Fischer; 2005: 525-35.
- (18) Herold G, Hrsg. Innere Medizin: Eine vorlesungsorientierte Darstellung. Köln; 2007: 740.
- (19) Warkentin TE, Greinacher A, Koster A, Lincoff AM. Treatment and prevention of heparin-induced thrombocytopenia: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest.* 2008; 133(6 Suppl): 340S-380S.
- (20) Bounameaux H, Moerlose P de. Is laboratory monitoring of low-molecular-weight heparin therapy necessary? No. *J Thromb Haemost.* 2004; 2(4): 551–4.
- (21) Bhandari M, Hirsh J, Weitz JI, Young E, Venner TJ, Shaughnessy SG. The effects of standard and low molecular weight heparin on bone nodule formation in vitro. *Thromb Haemost.* 1998; 80(3): 413–7.
- (22) Warkentin TE, Levine MN, Hirsh J, Horsewood P, Roberts RS, Gent M et al. Heparin-induced thrombocytopenia in patients treated with low-molecular-weight heparin or unfractionated heparin. *N Engl J Med.* 1995; 332(20): 1330–5.
- (23) Hirsh J. Laboratory monitoring of low-molecular-weight heparin therapy. *J Thromb Haemost.* 2004; 2(6): 1003-1003.

- (24) Canales JF, Ferguson JJ. Low-molecular-weight heparins: Mechanisms, trials, and role in contemporary interventional medicine. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2008; 8(1): 15–25.
- (25) Schaden E, Schober A, Hacker S, Spiss C, Chiari A, Kozek-Langenecker S. Determination of enoxaparin with rotational thrombelastometry using the prothrombinase-induced clotting time reagent. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2010; 21(3): 256–61.
- (26) Magnani HN, Gallus A. Heparin-induced thrombocytopenia (HIT). A report of 1,478 clinical outcomes of patients treated with danaparoid (Orgaran) from 1982 to mid-2004. *Thromb Haemost*. 2006; 95(6): 967–81.
- (27) Essex Pharma. Fachinformation Orgaran; Stand 2008.
- (28) Schuster B. [Monitoring of anticoagulants of secondary haemostasis]. *Hamostaseologie*. 2009; 29(3): 268–73.
- (29) Eikelboom JW, Hirsh J. Monitoring unfractionated heparin with the aPTT: Time for a fresh look. *Thromb Haemost*. 2006; 96(5): 547–52.
- (30) Harenberg J, Giese C, Hagedorn A, Traeger I, Fenyvesi T. Determination of antithrombin-dependent factor Xa inhibitors by prothrombin-induced clotting time. *Semin Thromb Hemost*. 2007; 33(5): 503–7.
- (31) van den Besselaar AM, Meeuwisse-Braun J, Bertina RM. Monitoring heparin therapy: relationships between the activated partial thromboplastin time and heparin assays based on ex-vivo heparin samples. *Thromb Haemost*. 1990; 63(1): 16–23.
- (32) Thomas L, Hrsg. Labor und Diagnose: Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik. 7. Aufl. Frankfurt / Main: TH-Books Verl.-Ges.; 2008: 844-6.
- (33) Olson JD, Arkin CF, Brandt JT, Cunningham MT, Giles A, Koepke JA et al. College of American Pathologists Conference XXXI on laboratory monitoring of anticoagulant therapy: laboratory monitoring of unfractionated heparin therapy. *Arch Pathol Lab Med*. 1998; 122(9): 782–98.
- (34) Levine MN, Hirsh J, Gent M, Turpie AG, Cruickshank M, Weitz J et al. A randomized trial comparing activated thromboplastin time with heparin assay in patients with acute venous thromboembolism requiring large daily doses of heparin. *Arch Intern Med*. 1994; 154(1): 49–56.
- (35) Fenyvesi T, Jörg I, Harenberg J. Effect of phenprocoumon on monitoring of lepirudin, argatroban, melagatran and unfractionated heparin with the PiCT method. *Pathophysiol Haemost Thromb*. 2002; 32(4): 174–9.

- (36) Refsum N, Collen D, Godal HC, Janson T, Mannucci PM, Nilsson IM et al. Sensitivity and precision of activated partial thromboplastin time (APTT) methods. A multicenter study. *Scand J Haematol.* 1978; 20(1): 89–95.
- (37) Brill-Edwards P, Ginsberg JS, Johnston M, Hirsh J. Establishing a therapeutic range for heparin therapy. *Ann Intern Med.* 1993; 119(2): 104–9.
- (38) Kitchen S, Jennings I, Woods TA, Preston FE. Wide variability in the sensitivity of APTT reagents for monitoring of heparin dosage. *J Clin Pathol.* 1996; 49(1): 10–4.
- (39) Kitchen S, Theaker J, Preston FE. Monitoring unfractionated heparin therapy: relationship between eight anti-Xa assays and a protamine titration assay. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2000; 11(2): 137–44.
- (40) Favaloro EJ, Bonar R, Sioufi J, Wheeler M, Low J, Aboud M et al. An international survey of current practice in the laboratory assessment of anticoagulant therapy with heparin. *Pathology.* 2005; 37(3): 234–8.
- (41) Hirsh J, Raschke R. Heparin and low-molecular-weight heparin: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest.* 2004; 126(3 Suppl): 188S-203S.
- (42) Francis JL, Groce JB. Challenges in variation and responsiveness of unfractionated heparin. *Pharmacotherapy.* 2004; 24(8 Pt 2): 108S-119S.
- (43) Yin ET, Wessler S, Butler JV. Plasma heparin: a unique, practical, submicrogram-sensitive assay. *J Lab Clin Med.* 1973; 81(2): 298–310.
- (44) Bara L, Combe-Tamzali S, Conard J, Horellou MH, Samama M. Laboratory monitoring of a low molecular weight heparin (enoxaparin) with a new clotting test (Heptest). *Haemostasis.* 1987; 17(3): 127–33.
- (45) ten Cate H, Lamping RJ, Henny CP, Prins A, ten Cate JW. Automated amidolytic method for determining heparin, a heparinoid, and a low-Mr heparin fragment, based on their anti-Xa activity. *Clin Chem.* 1984; 30(6): 860–4.
- (46) Guder WG, Nolte J, Hrsg. *Das Laborbuch für Klinik und Praxis.* 1. Aufl. München: Elsevier; Urban & Fischer 2005: 553-5.
- (47) Harenberg J. Is laboratory monitoring of low-molecular-weight heparin therapy necessary? Yes. *J Thromb Haemost.* 2004; 2(4): 547–50.
- (48) Greaves M. Limitations of the laboratory monitoring of heparin therapy. Scientific and Standardization Committee Communications: on behalf of the Control of Anticoagulation Subcommittee of the Scientific and Standardization Committee of the International Society of Thrombosis and Haemostasis. *Thromb Haemost.* 2002; 87(1): 163–4.



- (49) Kovacs MJ, Keeney M, MacKinnon K, Boyle E. Three different chromogenic methods do not give equivalent anti-Xa levels for patients on therapeutic low molecular weight heparin (dalteparin) or unfractionated heparin. *Clin Lab Haematol.* 1999; 21(1): 55–60.
- (50) Raivio P, Kuitunen A, Petäjä J, Ilveskero S, Lassila R. Monitoring high-dose heparinization during cardiopulmonary by-pass—a comparison between prothrombinase-induced clotting time (PiCT) and two chromogenic anti-factor Xa activity assays. *Thromb Haemost.* 2008; 99(2): 427–34.
- (51) Bara L, Planes A, Samama MM. Occurrence of thrombosis and haemorrhage, relationship with anti-Xa, anti-IIa activities, and D-dimer plasma levels in patients receiving a low molecular weight heparin, enoxaparin or tinzaparin, to prevent deep vein thrombosis after hip surgery. *Br J Haematol.* 1999; 104(2): 230–40.
- (52) Walenga JM, Hoppensteadt DA. Monitoring the new antithrombotic drugs. *Semin Thromb Hemost.* 2004; 30(6): 683–95.
- (53) Hemker HC, Al Dieri R, Béguin S. Laboratory monitoring of low-molecular-weight heparin therapy—part II. *J Thromb Haemost.* 2005; 3(3): 571–3.
- (54) Boneu B. Laboratory monitoring of low-molecular-weight heparin therapy—part II. *J Thromb Haemost.* 2005; 3(3): 573–4.
- (55) Harenberg J. LMWH - new mechanisms of action. *Thromb Res.* 2009; 123 Suppl 3: S1-4.
- (56) Calatzis A, Peetz D, Haas S, Spannagl M, Rudin K, Wilmer M. Prothrombinase-induced clotting time assay for determination of the anticoagulant effects of unfractionated and low-molecular-weight heparins, fondaparinux, and thrombin inhibitors. *Am J Clin Pathol.* 2008; 130(3): 446–54.
- (57) Schöni R. The use of snake venom-derived compounds for new functional diagnostic test kits in the field of haemostasis. *Pathophysiol Haemost Thromb.* 2005; 34(4-5): 234–40.
- (58) Jessen LR, Wiinberg B, Jensen AL, Kjelgaard-Hansen M, Jensen KH, Pedersen LB et al. In vitro heparinization of canine whole blood with low molecular weight heparin (dalteparin) significantly and dose-dependently prolongs heparinase-modified tissue factor-activated thromboelastography parameters and prothrombinase-induced clotting time. *Vet Clin Pathol.* 2008; 37(4): 363–72.
- (59) Wolff HP, Weihrauch TR, Hrsg. *Internistische Therapie.* 17. Aufl. München: Elsevier Urban & Fischer; 2008: 917.

- (60) Levey AS, Coresh J, Balk E, Kausz AT, Levin A, Steffes MW et al. National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Ann Intern Med.* 2003; 139(2): 137–47.
- (61) Harenberg J, Wehling M. Future of Anticoagulant Therapy. *Cardiovasc Ther.* 2010. [Epub ahead of print]
- (62) Geerts WH, Bergqvist D, Pineo GF, Heit JA, Samama CM, Lassen MR et al. Prevention of Venous Thromboembolism. *Chest.* 2008; 133(6 Suppl): 381S-453S.
- (63) Heizmann M, Baerlocher GM, Steinmann F, Horber FF, Wuillemin W. Anti-Xa activity in obese patients after double standard dose of nadroparin for prophylaxis. *Thromb Res.* 2002; 106(4-5): 179–81.
- (64) Green B, Greenwood M, Saltissi D, Westhuyzen J, Kluver L, Rowell J et al. Dosing strategy for enoxaparin in patients with renal impairment presenting with acute coronary syndromes. *Br J Clin Pharmacol.* 2005; 59(3): 281–90.
- (65) Lim W, Dentali F, Eikelboom JW, Crowther MA. Meta-analysis: Low-molecular-weight heparin and bleeding in patients with severe renal insufficiency. *Ann Intern Med.* 2006; 144(9): 673–84.
- (66) Priglinger U, Delle Karth G, Geppert A, Joukhadar C, Graf S, Berger R et al. Prophylactic anticoagulation with enoxaparin: Is the subcutaneous route appropriate in the critically ill? *Crit Care Med.* 2003; 31(5): 1405–9.
- (67) LaPointe NMA, Chen AY, Alexander KP, Roe MT, Pollack CV, Lytle BL et al. Enoxaparin dosing and associated risk of in-hospital bleeding and death in patients with non ST-segment elevation acute coronary syndromes. *Arch Intern Med.* 2007; 167(14): 1539–44.
- (68) Melloni C, Alexander KP, Chen AY, Newby LK, Roe MT, Allen LaPointe NM et al. Unfractionated heparin dosing and risk of major bleeding in non-ST-segment elevation acute coronary syndromes. *Am Heart J.* 2008; 156(2): 209–15.
- (69) Siguret V, Pautas E, Gouin I. Low molecular weight heparin treatment in elderly subjects with or without renal insufficiency: new insights between June 2002 and March 2004. *Curr Opin Pulm Med.* 2004; 10(5): 366–70.
- (70) Boneu B. Low molecular weight heparin therapy: is monitoring needed? *Thromb Haemost.* 1994; 72(3): 330–4.
- (71) Alhenc-Gelas M, Jestin-Le Guernic C, Vitoux JF, Kher A, Aiach M, Fiessinger JN. Adjusted versus fixed doses of the low-molecular-weight heparin fragmin in the treatment of deep vein thrombosis. Fragmin-Study Group. *Thromb Haemost.* 1994; 71(6): 698–702.

- (72) Shojania AM. More on: is laboratory monitoring of low-molecular-weight heparin necessary? *J Thromb Haemost.* 2004; 2(12): 2276–7.
- (73) Dörffler-Melly J, Jonge E de, Pont A, Meijers J, Vroom MB, Büller HR et al. Bioavailability of subcutaneous low-molecular-weight heparin to patients on vasopressors. *Lancet.* 2002; 359(9309): 849–50.
- (74) Bates SA, Greer IA, Hirsh J, Ginsberg JS. Use of antithrombotic agents during pregnancy. *Chest.* 2004; 126(3 Suppl): 627S-644S.
- (75) Dempfle C, Zharkowa U, Elmas E, Ahmad-Nejad P, Neumaier M, Borggreffe M. Heptest-STAT, a new assay for monitoring of low-molecular-weight heparins, is not influenced by pregnancy-related changes of blood plasma. *Thromb Haemost.* 2009; 102(5): 1001–6.
- (76) Bremme K, van Rooijen M, Yu A, Blombäck M. Accumulation of low molecular mass heparin during prophylactic treatment in pregnancy. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2001; 12(2): 149–55.
- (77) Casele HL. The use of unfractionated heparin and low molecular weight heparins in pregnancy. *Clin Obstet Gynecol.* 2006; 49(4): 895–905.
- (78) Campbell PJ, Tirvengadam MA, Pickering W, Cohen H, Ryan KE. HEPTEST: a suitable method for monitoring heparin during pregnancy. *Clin Lab Haematol.* 1999; 21(3): 193–9.
- (79) Friedrich E, Hameed AB. Fluctuations in anti-factor Xa levels with therapeutic enoxaparin anticoagulation in pregnancy. *J Perinatol.* 2010; 30(4): 253–7.
- (80) Fox NS, Laughon SK, Bender SD, Saltzman DH, Rebarber A. Anti-factor Xa plasma levels in pregnant women receiving low molecular weight heparin thromboprophylaxis. *Obstet Gynecol.* 2008; 112(4): 884–9.
- (81) Thorevska N, Amoateng-Adjepong Y, Sabahi R, Schiopescu I, Salloum A, Muralidharan V et al. Anticoagulation in hospitalized patients with renal insufficiency: a comparison of bleeding rates with unfractionated heparin vs enoxaparin. *Chest.* 2004; 125(3): 856–63.
- (82) Schinzel H. Einsatz von niedermolekularen Heparinen bei Niereninsuffizienz. *Vascular Care.* 2007; (1): 18–29.
- (83) Lim W, Dentali F, Eikelboom JW, Crowther MA. Meta-analysis: low-molecular-weight heparin and bleeding in patients with severe renal insufficiency. *Ann Intern Med.* 2006; 144(9): 673–84.
- (84) Spinler SA, Inverso SM, Cohen M, Goodman SG, Stringer KA, Antman EM. Safety and efficacy of unfractionated heparin versus enoxaparin in patients who are obese and patients with severe renal impairment: analysis from the ESSENCE and TIMI 11B studies. *Am Heart J.* 2003; 146(1): 33–41.

- (85) Boneu B, Moerloose P de. How and when to monitor a patient treated with low molecular weight heparin. *Semin Thromb Hemost.* 2001; 27(5): 519–22.
- (86) Hirsh J, Bauer KA, Donati MB, Gould M, Samama MM, Weitz JI. Parenteral Anticoagulants. *Chest.* 2008; 133(6 Suppl): 141S-159S.
- (87) Zürcher M, Sulzer I, Barizzi G, Lämmle B, Alberio L. Stability of coagulation assays performed in plasma from citrated whole blood transported at ambient temperature. *Thromb Haemost.* 2008; 99(2): 416–26.
- (88) Mößmer G, Spannagl M. Anti-Faktor-Xa-Aktivität. In: Guder WG, Nolte J, Hrsg. *Das Laborbuch für Klinik und Praxis.* 1. Aufl. München: Elsevier Urban & Fischer; 2005: 553–5.
- (89) Fiebig EW, Ezzell JE, Ng VL. Clinically relevant differences in prothrombin time and INR values related to blood sample collection in plastic vs glass tubes. *Am J Clin Pathol* 2005; 124(6): 902–9.
- (90) Boneu B, Faruel-Bille V, Pierrejean D, Gabaig AM. Limitations of the chronometric assays to determine plasma antifactor Xa activity during low molecular weight heparin therapy. *Nouv Rev Fr Hematol.* 1991; 33(4): 287–91.
- (91) Lyon SG, Lasser EC, Stein R. Modification of an amidolytic heparin assay to express protein-bound heparin and to correct for the effect of antithrombin III concentration. *Thromb Haemost.* 1987; 58(3): 884–7.
- (92) Bates SM, Weitz JI. Coagulation assays. *Circulation.* 2005; 112(4): E53-E60.
- (93) Fenyvesi T, Jörg I, Harenberg J. Monitoring of anticoagulant effects of direct thrombin inhibitors. *Semin Thromb Hemost.* 2002; 28(4): 361–8.
- (94) Castellone DD, van Cott EM. Laboratory monitoring of new anticoagulants. *Am J Hematol.* 2010; 85(3): 185–7.
- (95) Korte W, Jovic R, Hollenstein M, Degiacomi P, Gautschi M, Ferrández A. Der PiCT UC-Test ist gleichermaßen einfach aber präziser als die aPTT zur Überwachung von unfraktioniertem Heparin. *Hamostaseologie.* 2010; 30(4): 212–6.
- (96) Harder S, Parisius J, Picard-Willems B. Monitoring direct FXa-inhibitors and fondaparinux by Prothrombinase-induced Clotting Time (PiCT): relation to FXa-activity and influence of assay modifications. *Thromb Res.* 2008; 123(2): 396–403.
- (97) Graff J, Picard-Willems B, Harder S. Monitoring effects of direct FXa-inhibitors with a new one-step prothrombinase-induced clotting time (PiCT) assay: comparative in vitro investigation with heparin, enoxaparin, fondaparinux and DX 9065a. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2007; 45(4): 237–43.

- (98) Laposata M, Green D, van Cott EM, Barrowcliffe TW, Goodnight SH, Sosolik RC. College of American Pathologists Conference XXXI on laboratory monitoring of anticoagulant therapy: the clinical use and laboratory monitoring of low-molecular-weight heparin, danaparoid, hirudin and related compounds, and argatroban. *Arch Pathol Lab Med.* 1998; 122(9): 799–807.
- (99) Hach-Wunderle V, Dux M, Zegelman M, Hoffmann A, Präve F, Hach W. The treatment of deep vein thrombosis in the pelvis and leg. *Dtsch Arztebl Int.* 2008; 105(1-2): 25-33.
- (100) Samama MM, Poller L. Contemporary laboratory monitoring of low molecular weight heparins. *Clin Lab Med.* 1995; 15(1): 119–23.
- (101) Magnani HN. Heparin-induced thrombocytopenia (HIT): an overview of 230 patients treated with orgaran (Org 10172). *Thromb Haemost.* 1993; 70(4): 554–61.
- (102) Low molecular weight heparinoid, ORG 10172 (danaparoid), and outcome after acute ischemic stroke: a randomized controlled trial. The Publications Committee for the Trial of ORG 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST) Investigators. *JAMA.* 1998; 279(16): 1265–72.
- (103) Becker RC, Spencer FA, Gibson M, Rush JE, Sanderink G, Murphy SA et al. Influence of patient characteristics and renal function on factor Xa inhibition pharmacokinetics and pharmacodynamics after enoxaparin administration in non-ST-segment elevation acute coronary syndromes. *Am Heart J.* 2002; 143(5): 753–9.
- (104) Levine MN, Planes A, Hirsh J, Goodyear M, Vochelle N, Gent M. The relationship between anti-factor Xa level and clinical outcome in patients receiving enoxaparin low molecular weight heparin to prevent deep vein thrombosis after hip replacement. *Thromb Haemost.* 1989; 62(3): 940–4.
- (105) Walenga JM, Hoppensteadt D, Fareed J. Laboratory monitoring of the clinical effects of low molecular weight heparins. *Thromb Res Suppl.* 1991; 14: 49–62.
- (106) Prandoni P, Carta M, Cogo A, Ruol A, Vigo M, Casara D et al. Comparison of subcutaneous low-molecular-weight heparin with intravenous standard heparin in proximal deep-vein thrombosis. *Lancet.* 1992; 339(8791): 441–5.
- (107) Bara L, Leizorovicz A, Picolet H, Samama M. Correlation between anti-Xa and occurrence of thrombosis and haemorrhage in post-surgical patients treated with either Logiparin (LMWH) or unfractionated heparin. Post-surgery Logiparin Study Group. *Thromb Res.* 1992; 65(4-5): 641–50.

- (108) Berges A, Laporte S, Epinat M, Zufferey P, Alamartine E, Tranchand B et al. Anti-factor Xa activity of enoxaparin administered at prophylactic dosage to patients over 75 years old. *Br J Clin Pharmacol*. 2007; 64(4): 428–38.
- (109) Harenberg J, Stehle G, Blauth M, Huck K, Mall K, Heene DL. Dosage, anticoagulant, and antithrombotic effects of heparin and low-molecular-weight heparin in the treatment of deep vein thrombosis. *Semin Thromb Hemost*. 1997; 23(1): 83–90.
- (110) Douketis JD, Woods K, Foster GA, Crowther MA. Bridging anticoagulation with low-molecular-weight heparin after interruption of warfarin therapy is associated with a residual anticoagulant effect prior to surgery. *Thromb Haemost*. 2005; 94(3): 528–31.
- (111) O'Donnell MJ, Kearon C, Johnson J, Robinson M, Zondag M, Turpie I et al. Brief communication: Preoperative anticoagulant activity after bridging low-molecular-weight heparin for temporary interruption of warfarin. *Ann Intern Med*. 2007; 146(3): 184–7.
- (112) Paige JT, Gouda BP, Gaitor-Stampley V, Scalia PG, Klainer TE, Raum WJ et al. No correlation between anti-factor Xa levels, low-molecular-weight heparin, and bleeding after gastric bypass. *Surg Obes Relat Dis*. 2007; 3(4): 469–75.
- (113) Schulman S, Beyth RJ, Kearon C, Levine MN. Hemorrhagic complications of anticoagulant and thrombolytic treatment: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest*. 2008; 133(6 Suppl): 257S-298S.
- (114) Hammerstingl C, Omran H, Tripp C, Poetzsch B. How useful is determination of anti-factor Xa activity to guide bridging therapy with enoxaparin? A pilot study. *Thromb Haemost*. 2009; 101(2): 325–32.
- (115) Kassaï B, Shah NR, Leizorovicza A, Cucherat M, Gueyffier F, Boissel J. The true treatment benefit is unpredictable in clinical trials using surrogate outcome measured with diagnostic tests. *J Clin Epidemiol*. 2005; 58(10): 1042–51.
- (116) Endler G, Slavka G, Perkmann T, Haushofer A. Die Bedeutung der Präanalytik für das Gerinnungslabor. *Hamostaseologie*. 2010; 30(2): 63–70.
- (117) Spannagl M, Moessmer G. Hämostaseologische Globalteste. *Hamostaseologie* 2006; 26(1): 27–37.
- (118) Spannagl M, Peetz D. Neue orale Antikoagulantien als Stör- und Einflussgrößen in der Gerinnungsdiagnostik. München: INSTAND Deutschland; 2009 [zitiert am 2010]. URL: [http://www.instandev.de/fileadmin/instand/downloads/Neue\\_Antikoagulantien\\_Version\\_Labor\\_13\\_08.pdf](http://www.instandev.de/fileadmin/instand/downloads/Neue_Antikoagulantien_Version_Labor_13_08.pdf).

- (119) Jackson CM, White GC, Barrowcliffe T, Esnouf MP, Jespersen J, Klufft C et al. A reference system approach to future standardization of laboratory tests for hemostasis. A position paper of the Joint Committee of the IFCC Scientific Division and the ISTH Scientific and Standardization Committee. *Thromb Haemost.* 2002; 87(1): 165–9.
- (120) Lane DA, Grant PJ. Role of hemostatic gene polymorphisms in venous and arterial thrombotic disease. *Blood.* 2000; 95(5): 1517–32.
- (121) Zenahlikova Z, Kvasnicka J, Kudrnova Z, Sudrova M, Brzezakova R, Mazoch J et al. FXa Inhibition and Coagulation Changes During DVT Prophylaxis by Enoxaparin Over the Course of a 15-Day Follow-Up in Septic Patients. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2010; 16(5): 584–90.
- (122) Alban S, Gastpar R. Plasma levels of total and free tissue factor pathway inhibitor (TFPI) as individual pharmacological parameters of various heparins. *Thromb Haemost.* 2001; 85(5): 824–9.
- (123) Gori AM, Pepe G, Attanasio M, Falciani M, Abbate R, Prisco D et al. Tissue factor reduction and tissue factor pathway inhibitor release after heparin administration. *Thromb Haemost.* 1999; 81(4): 589–93.
- (124) Kuczka K, Harder S, Picard-Willems B, Warnke A, Donath F, Bianchini P et al. Biomarkers and coagulation tests for assessing the biosimilarity of a generic low-molecular-weight heparin: results of a study in healthy subjects with enoxaparin. *J Clin Pharmacol.* 2008; 48(10): 1189–96.
- (125) Girolami A, Vettore S. Discrepancies between clotting and chromogenic assays in congenital coagulation disorders: the hemostatic coin has only one face, chromogenic substrates many. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2009; 20(6): 484–5.
- (126) van Veen JJ, Gatt A, Makris M. Thrombin generation testing in routine clinical practice: are we there yet? *Br J Haematol.* 2008; 142(6): 889–903.
- (127) Carr ME, Martin EJ, Kuhn JG, Spiess BD. Onset of force development as a marker of thrombin generation in whole blood: the thrombin generation time (TGT). *J Thromb Haemost.* 2003; 1(9): 1977–83.
- (128) Brophy DF, Martin EJ, Best AM, Gehr TWB, Carr ME. Antifactor Xa activity correlates to thrombin generation time, platelet contractile force and clot elastic modulus following ex vivo enoxaparin exposure in patients with and without renal dysfunction. *J Thromb Haemost.* 2004; 2(8): 1299–304.
- (129) Brophy DF, Martin EJ, Gehr TWB, Carr ME. Enhanced anticoagulant activity of enoxaparin in patients with ESRD as measured by thrombin generation time. *Am J Kidney Dis.* 2004; 44(2): 270–7.

- (130) Brophy DF, Martin EJ, Gehr TWB, Best AM, Paul K, Carr ME. Thrombin generation time is a novel parameter for monitoring enoxaparin therapy in patients with end-stage renal disease. *J Thromb Haemost.* 2006; 4(2): 372–6.
- (131) Brophy DF, Martin EJ, Gehr TWB, Best AM, Paul K, Carr ME. Thrombin generation time is a novel parameter for monitoring enoxaparin therapy in patients with end-stage renal disease. *J Thromb Haemost.* 2006; 4(2): 372–6.
- (132) Alexander JH, Yang H, Becker RC, Kodama K, Goodman S, Dyke CK et al. First experience with direct, selective factor Xa inhibition in patients with non-ST-elevation acute coronary syndromes: results of the XaNADU-ACS Trial. *J Thromb Haemost.* 2005; 3(3): 439–47.
- (133) Fisher WD, Eriksson BI, Bauer KA, Borris L, Dahl OE, Gent M et al. Rivaroxaban for thromboprophylaxis after orthopaedic surgery: pooled analysis of two studies. *Thromb Haemost.* 2007; 97(6): 931–7.
- (134) Harder S, Klinkhardt U, Alvarez JM. Avoidance of bleeding during surgery in patients receiving anticoagulant and/or antiplatelet therapy: pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations. *Clin Pharmacokinet.* 2004; 43(14): 963–81.



