

**Aus der Klinik für Anästhesiologie  
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf  
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Benedikt Pannen**

**Einfluss der direkten Thrombininhibitoren Argatroban und Lepirudin  
auf die Rotationsthrombelastometrie (ROTEM®)**

**Dissertation**

**zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf**

**vorgelegt von  
Patrick Werner**

**2019**

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: PD Dr. med. Martin Beiderlinden

Zweitgutachter: PD Dr. med. Thomas Schroeder

Jeannette, Tobi und meiner Familie

## Auflistung der Publikationen

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Beiderlinden M, **Werner P**, Bahlmann A, Kemper J, Brezina T, Schaefer MS, Goerlinger K, Seidel H, Kienbaum P, Meyer-Treschan TA. Monitoring of argatroban and lepirudin anticoagulation in critically ill patients by conventional laboratory parameters and rotational thromboelastometry - a prospectively controlled randomized double-blind clinical trial. *BMC Anesthesiol.* 2018;18(1):18. doi:10.1186/s12871-018-0475-y.

## Zusammenfassung

Die Steuerung der Therapie von direkten Thrombininhibitoren (DTIs) bei Patienten mit heparininduzierter Thrombozytopenie (HIT) ist entscheidend, um thromboembolische Komplikationen einerseits und Blutungen andererseits so gering wie möglich zu halten.

Festgelegte Zielbereiche für das Monitoring der DTIs sind bisher nur für die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) verfügbar. Dass die aPTT nicht optimal zum Monitoring geeignet ist, wurde mehrfach beschrieben und spiegelt Expertenmeinung wider. Besser geeignet sollen Plasmaspiegelbestimmungen mittels *ecarin chromogenic assay* (ECA) oder die Thrombinzeit (TZ) sein. Zielbereiche liegen für beide Verfahren aber nicht vor. Es ist bekannt, dass sich die Parameter INTEM CT und EXTEM CT der Rotationsthrombelastometrie (ROTEM®) konzentrationsabhängig verlängern und für ein Monitoring von Argatroban und Lepirudin geeignet sein könnten.

Wir untersuchten deshalb in einer Substudie der doppelblinden und randomisierten ALicia-Studie während der Therapie mit Argatroban und Lepirudin bei 35 Patienten mit Verdacht auf HIT, ob die ROTEM® besser zum Monitoring der DTIs geeignet sein könnte als die aPTT oder die TZ. Messungen von aPTT, TZ, Quick und den ROTEM®-Parametern INTEM CT, EXTEM CT und deren *ratios* wurden zu den Zeitpunkten Baseline sowie 12, 24, 48 und 72 Stunden nach Studienstart erhoben. Die Gerinnselfestigkeit wurde zu den gleichen Zeitpunkten mit der *maximum clot firmness* (MCF) von INTEM, EXTEM und FIBTEM überprüft, während die Plasmaspiegel mittels ECA nach 12, 24, 48 und 72 Stunden nach Studienstart bestimmt wurden.

453 ROTEM®-Messungen (152 INTEM, 153 EXTEM und 148 FIBTEM) konnten ausgewertet werden. Nach Start der Studienmedikation verlängerten sich die aPTT und TZ in beiden Gruppen signifikant. Die INTEM CT war nur in der Argatroban-Gruppe zu allen Zeitpunkten signifikant verlängert. Die EXTEM CT verlängerte sich in beiden Gruppen signifikant, in der Lepirudin-Gruppe allerdings nicht zu allen Zeitpunkten.

Während die aPTT in beiden Gruppen nicht mit dem Plasmaspiegel korrelierte ( $r_s=0,18$ ;  $p=0,21$  und  $r_s=0,08$ ;  $p=0,56$ ; ein  $p<0,01$  galt als statistisch signifikant), zeigte sich eine signifikante Korrelation des Argatroban-Plasmaspiegels mit der INTEM CT ( $r_s=0,54$ ;  $p<0,001$ ). Der Lepirudin-Plasmaspiegel korrelierte nicht mit der INTEM CT ( $r_s=0,27$ ;  $p=0,05$ ). EXTEM CT und TZ korrelierten signifikant in beiden Gruppen mit dem Plasmaspiegel (Korrelationen der Plasmaspiegel von Argatroban versus Lepirudin:  $r_s=0,71$ ;  $p<0,001$  versus  $r_s=0,59$ ;  $p<0,001$  für die EXTEM CT und  $r_s=0,78$ ;  $p<0,001$  versus  $r_s=0,81$ ;  $p<0,001$  für die TZ). Durch Bilden von *ratios* wurde der Korrelationskoeffizient von INTEM CT und EXTEM CT mit dem Plasmaspiegel in beiden Gruppen erhöht (Argatroban versus Lepirudin:  $r_s=0,59$ ;  $p<0,001$  versus  $r_s=0,83$ ;  $p<0,001$  für die INTEM CT *ratio* und  $r_s=0,76$ ;  $p<0,001$  versus  $r_s=0,82$ ;  $p<0,001$  für die EXTEM CT *ratio*).

In dieser explorativen Studie konnten wir unserer Erkenntnis nach zum ersten Mal zeigen, dass die ROTEM®-Parameter INTEM CT und EXTEM CT besser mit den Plasmaspiegeln von Argatroban und die EXTEM CT besser mit den Plasmaspiegeln von Lepirudin korrelieren als die aPTT. Die TZ korrelierte ebenfalls besser mit den Plasmaspiegeln als die aPTT. Wir verwendeten unseres Wissens nach zum ersten Mal *ratios* von ROTEM® CT-Werten. Die *ratios* von INTEM CT und vor allem EXTEM CT korrelierten gut mit den Plasmaspiegeln von Argatroban und Lepirudin.

Unsere Ergebnisse festigen die Aussagen in der Literatur, dass die aPTT zum Monitoring von Argatroban und Lepirudin nicht optimal geeignet ist. Ob die ROTEM®-Parameter INTEM CT, EXTEM CT und deren *ratios* im klinischen Einsatz besser geeignet sind, muss in weiteren Studien erforscht werden. In unserer Studie ergaben sich keine Hinweise darauf, dass die Gerinnselfestigkeit während der Therapie mit den DTIs abnimmt.

## Abstract

Drug monitoring of direct thrombin inhibitors (DTIs) during therapy of heparin induced thrombocytopenia (HIT) is essential to minimize complications like bleedings on the one hand and thromboembolic events on the other hand.

Recommended target ranges do exist for the activated partial thromboplastin time (APTT) only. Evidence is evolving that the APTT might not be the method of choice. Better options may be the determination of drug concentrations with ecarin chromogenic assay (ECA) or the use of thrombin time (TT). But there are no recommendations for target ranges. It has been proven that the rotational thromboelastometry (ROTEM<sup>®</sup>) parameters INTEM CT and EXTEM CT are prolonged in a concentration-dependent manner and could thus be suitable for drug monitoring of both argatroban and lepirudin.

In this substudy of the randomized and double-blind ALicia trial, we therefore investigated 35 patients with suspected HIT during therapeutic anticoagulation with either argatroban or lepirudin to see if ROTEM<sup>®</sup> could be better used to monitor the DTIs than aPTT and TT. Measurements of APTT, TT, Quick and the ROTEM<sup>®</sup> parameters INTEM CT, EXTEM CT and their ratios were taken at baseline as well as 12, 24, 48 and 72 hours after the beginning of the trial. At the same time clot firmness was measured as maximum clot firmness (MCF) of INTEM, EXTEM and FIBTEM. Plasma concentrations were measured with ECA 12, 24, 48 and 72 hours after the beginning of the trial.

453 ROTEM<sup>®</sup> measurements (152 INTEM, 153 EXTEM and 148 FIBTEM) could be utilized. After the DTI treatment had been started, APTT and TT prolonged significantly in both groups. INTEM CT was prolonged significantly at all time points in the argatroban group only. EXTEM CT was prolonged significantly in both groups, but not at all time points in the lepirudin group.

APTT did not correlate with plasma concentrations in both groups ( $r_s=0.18$ ,  $p=0.21$  and  $r_s=0.08$ ,  $p=0.56$ ). Argatroban plasma concentrations correlated significantly with INTEM CT ( $r_s=0.54$ ,  $p<0.001$ ), whereas lepirudin plasma concentrations didn't correlate with INTEM CT ( $r_s=0.27$ ,  $p=0.05$ ). In both groups, EXTEM CT and TT correlated significantly with plasma concentrations (correlations of plasma concentrations for argatroban versus lepirudin:  $r_s=0.71$ ,  $p<0.001$  versus  $r_s=0.59$ ,  $p<0.001$  for EXTEM CT and  $r_s=0.78$ ,  $p<0.001$  versus  $r_s=0.81$ ,  $p<0.001$  for TT). Ratios of INTEM CT and EXTEM CT correlated even stronger with plasma concentrations in both groups (argatroban versus lepirudin:  $r_s=0.59$ ,  $p<0.001$  versus  $r_s=0.83$ ,  $p<0.001$  for INTEM CT ratio and  $r_s=0.76$ ,  $p<0.001$  versus  $r_s=0.82$ ,  $p<0.001$  for EXTEM CT ratio).

To our knowledge, this is the first study to show that the ROTEM<sup>®</sup> parameters INTEM CT and EXTEM CT correlate better with the plasma concentrations of argatroban and that EXTEM CT correlates better with the plasma concentrations of lepirudin than the APTT. TT correlated also better with DTI plasma concentrations than APTT. As far as we know, this is the first time in literature that ratios of ROTEM<sup>®</sup> CT values are used. Ratios of INTEM CT and even more of EXTEM CT correlated well with plasma concentrations of argatroban and lepirudin.

Our findings strengthen the statements in literature that APTT is not the ideal method to monitor the treatment of argatroban and lepirudin. If the ROTEM<sup>®</sup> parameters INTEM CT, EXTEM CT and their ratios are more suitable in clinical practice must be explored in further studies. This trial showed no indication that the maximum clot firmness decreases during treatment with argatroban or lepirudin.

## Abkürzungsverzeichnis

|               |   |
|---------------|---|
| <b>aPTT</b>   | aktivierte partielle Thromboplastinzeit                     |
| <b>BMI</b>    | <i>Body Mass Index</i>                                      |
| <b>CT</b>     | <i>clotting time</i>  |
| <b>DTI</b>    | direkter Thrombininhibitor                                  |
| <b>ECA</b>    | <i>ecarin chromogenic assay</i>                             |
| <b>ELISA</b>  | <i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>                    |
| <b>HIT</b>    | heparininduzierte Thrombozytopenie                          |
| <b>MAD</b>    | mittlerer arterieller Blutdruck                             |
| <b>MCF</b>    | <i>maximum clot firmness</i> (maximale Gerinnselfestigkeit) |
| <b>mmHg</b>   | Millimeter-Quecksilbersäule                                 |
| <b>mmol</b>   | Millimol  |
| <b>PF4</b>    | <i>platelet factor 4</i> (Plättchenfaktor 4)                |
| <b>ROTEM®</b> | Rotationsthrombelastometrie                                 |
| <b>RR</b>     | Blutdruck nach Riva-Rocci                                   |
| <b>TEG®</b>   | Thrombelastographie   |
| <b>TZ</b>     | Thrombinzeit  |
| <b>U</b>      | <i>unit</i> (Enzymeinheit)                                  |

# Inhaltsverzeichnis

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| <b>1</b> | <b>Einleitung</b> .....  | <b>1</b>  |
| 1.1      | Antikoagulation bei kritisch Kranken .....   | 1         |
| 1.2      | Heparininduzierte Thrombozytopenie.....  | 1         |
| 1.3      | Therapie der HIT bei kritisch Kranken mit direkten Thrombininhibitoren.....                          | 3         |
| 1.3.1    | Argatroban.....  | 3         |
| 1.3.2    | Lepirudin .....  | 4         |
| 1.4      | Therapieüberwachung während der Antikoagulation mit Argatroban oder Lepirudin .....                  | 5         |
| 1.5      | Die Rotationsthrombelastometrie (ROTEM®) .....   | 7         |
| 1.6      | Fragestellung / Ziele der Arbeit .....   | 12        |
| <b>2</b> | <b>Material und Methoden</b> .....   | <b>13</b> |
| 2.1      | Probanden und Probengewinnung .....  | 13        |
| 2.2      | ROTEM®-Tests .....   | 14        |
| 2.3      | Datengewinnung und Auswertung .....  | 16        |
| 2.4      | Statistische Auswertung.....   | 17        |
| <b>3</b> | <b>Ergebnisse</b> .....  | <b>18</b> |
| 3.1      | Validierung der ROTEM®-Messungen und Plausibilitätskontrolle .....                                   | 21        |
| 3.2      | Die Plasmaspiegel der direkten Thrombininhibitoren .....   | 22        |
| 3.3      | Intrinsisches Gerinnungssystem .....   | 23        |
| 3.3.1    | Verlauf der aPTT .....   | 23        |
| 3.3.2    | Dauer bis zum Start der Gerinnungsbildung: INTEM CT.....   | 24        |
| 3.3.3    | Korrelationen der aPTT, INTEM CT und deren <i>ratios</i> mit den Plasmaspiegeln von Argatroban ..... | 25        |
| 3.3.4    | Korrelationen der aPTT, INTEM CT und deren <i>ratios</i> mit den Plasmaspiegeln von Lepirudin .....  | 26        |
| 3.4      | Extrinsisches Gerinnungssystem .....   | 27        |
| 3.4.1    | Verlauf des Quick-Wertes .....   | 27        |

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| 3.4.2    | Dauer bis zum Start der Gerinnungsbildung: EXTEM CT.....   | 28        |
| 3.4.3    | Korrelationen des Quick, der EXTEM CT und deren <i>ratios</i> mit den<br>Plasmaspiegeln von Argatroban ..... | 29        |
| 3.4.4    | Korrelationen des Quick, der EXTEM CT und deren <i>ratios</i> mit den<br>Plasmaspiegeln von Lepirudin .....  | 30        |
| 3.5      | Gemeinsame Endstrecke der Gerinnung .....  | 31        |
| 3.5.1    | Verlauf der Thrombinzeit .....   | 31        |
| 3.5.2    | Korrelationen der TZ mit den Plasmaspiegeln von Argatroban und<br>Lepirudin.....                             | 32        |
| 3.6      | Synopsis der Korrelationen .....   | 33        |
| 3.7      | Analyse der maximalen Gerinnungsfestigkeit MCF .....   | 34        |
| 4        | Diskussion .....   | 36        |
| 4.1      | Ergebniszusammenfassung .....  | 36        |
| 4.2      | Einfluss von Argatroban und Lepirudin auf das Gerinnungssystem.....  | 36        |
| 4.2.1    | Einfluss auf das intrinsische Gerinnungssystem .....   | 36        |
| 4.3.2    | Einfluss auf das extrinsische Gerinnungssystem .....   | 40        |
| 4.3.3    | Einfluss auf die gemeinsame Endstrecke des Gerinnungssystems .....   | 41        |
| 4.3      | Zum Monitoring von Argatroban geeignete Methoden.....  | 42        |
| 4.4      | Einfluss von Argatroban und Lepirudin auf die Gerinnungsfestigkeit.....                                      | 44        |
| 4.5      | Limitationen .....   | 45        |
| 4.6      | Schlussfolgerung .....   | 46        |
| <b>5</b> | <b>Literaturverzeichnis.....</b>   | <b>47</b> |
| <b>6</b> | <b>Anhang .....</b>  | <b>56</b> |

# 1 Einleitung

## 1.1 Antikoagulation bei kritisch Kranken

Kritisch kranke Patienten erhalten auf operativen Intensivstationen regelhaft eine medikamentöse Thromboseprophylaxe, da sie bis auf wenige Ausnahmen als Hochrisikopatienten für tiefe Beinvenenthrombosen und Thromboembolien gelten. Im Allgemeinen haben chirurgische Patienten – und hier besonders orthopädische und unfallchirurgische Patienten – ein höheres Thromboserisiko als internistische Patienten. Dies liegt einerseits an den grundlegenden Erkrankungen, Verletzungen und den chirurgischen Maßnahmen, andererseits können anhaltende Immobilisation, mechanische Beatmung, Sepsis sowie Gefäßverletzungen durch zentralvenöse Katheter oder andere thrombogene Interventionen hinzukommen (1, 2, 3). Das Thromboembolie-Risiko setzt sich aus dispositionellen und expositionellen Faktoren zusammen und muss für jeden Patienten individuell bestimmt werden (1).

Die Wirksamkeit einer medikamentösen Prophylaxe zur Vermeidung von Thrombosen und Embolien bei nicht kritisch Kranken wurde sowohl für unfraktioniertes Heparin (3, 4, 5) als auch für fraktioniertes Heparin (6, 7, 8, 9) gezeigt. Für intensivmedizinisch betreute Patienten liegen insgesamt weniger Untersuchungen vor (10), eine medikamentöse Thromboseprophylaxe wird bis auf wenige Ausnahmen aber empfohlen (1).

Synergistisch können sich Basismaßnahmen wie Frühmobilisation, Bewegungsübungen, Anleitung zu Eigenübungen und physikalische Maßnahmen wie medizinische Strümpfe zur Thromboseprophylaxe und eine intermittierende pneumatische Kompression auswirken, die zum Teil regelhaft oder in bestimmten Situationen zusätzlich zur medikamentösen Prophylaxe empfohlen werden (1,11,12).

Der erwünschten Wirkung der Antikoagulation zur Vermeidung und Therapie von Thrombosen steht hinsichtlich unerwünschter Arzneimittelwirkungen besonders die Gefahr von Blutungen und das Auftreten einer heparininduzierten Thrombozytopenie gegenüber.

## 1.2 Heparininduzierte Thrombozytopenie

Die heparininduzierte Thrombozytopenie (HIT) ist potenziell lebensbedrohlich. Patienten mit HIT zeigen im Blutbild typischerweise eine relative Thrombozytopenie, also einen Thrombozytenabfall von >50% des Ausgangswertes, der meist fünf bis zehn Tage nach Start der Heparintherapie auftritt. Eine absolute Thrombozytopenie mit Werten unter

150.000/ $\mu$ l muss nicht vorliegen. Neu aufgetretene Thrombosen können zu diesem Zeitpunkt schon vorliegen oder im Verlauf als Komplikation auftreten. Ohne sofortige Behandlung liegt das Thromboserisiko bei ca. 50%. Venöse Thrombosen und Lungenembolien werden etwa dreimal häufiger beobachtet als arterielle thromboembolische Komplikationen (13, 14, 15, 16).

Nachdem der Begriff *heparin-induced thrombocytopenia* erstmals 1969 verwendet wurde, um einen Patienten mit einer Lungenembolie zu beschreiben, welcher nach Heparin-gabe eine Thrombozytopenie entwickelte (17), wurde eine immunologische Genese des Zusammenhangs zwischen Heparin-gabe und Thrombozytopenie vermutet (18, 19). Gegen Heparin gerichtete Antikörper wurden erstmals 1977 beschrieben (20). Erst 15 Jahre später wurde mit einem speziell entwickelten *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) nachgewiesen, dass ein Antigenkomplex aus Heparin und dem thrombozytären Chemokin *platelet factor 4* (PF4) das auslösende Agens der HIT ist und im weiteren Verlauf näher untersucht (21, 22, 23, 24). Unfraktioniertes Heparin führt häufiger zu einer HIT als fraktioniertes Heparin (25). Typischerweise wird die HIT von Immunglobulin-G-Antikörpern, welche an den Heparin/PF4-Komplex binden, ausgelöst. Durch die Bindung des Fc-Teils der Antikörper an die Fc-Rezeptoren  $\gamma$ IIa der Thrombozyten werden diese aktiviert. Die so aktivierten Thrombozyten aggregieren und der damit entstandene Thrombozyten-Verbrauch führt zu einem Absinken der Thrombozytenzahl. Dies führt in der Regel nicht zu einer Blutungsneigung, sondern zu einem hohen Risiko für die Entstehung von Blutgerinnseln und thromboembolischen Ereignissen (26, 27, 28, 29). Durch die Thrombozyten-aktivierung wird vermehrt PF4 freigesetzt. Hierdurch entstehen weitere Heparin/PF4-Komplexe. Es gibt Hinweise darauf, dass solche PF4-Moleküle, welche keine Komplexe mit Heparin gebildet haben, an heparinähnliche Glykosaminoglykane an der Endotheloberfläche binden. Binden an diese mit PF4 markierten Endothelzellen nun HIT-Antikörper, werden die Endothelzellen aktiviert. Durch aktivierte Thrombozyten und Endothelzellen kommt es zur Thrombinbildung, was wiederum zur weiteren Aktivierung von Thrombozyten und weiterer Ausschüttung von PF4 und Thrombinbildung führen kann und eine prokoagulatorisch wirkende Schleife aufrecht erhält (26, 30). Neuere Untersuchungen zeigen, dass auch Monozyten durch HIT-Antikörper aktiviert werden können, *tissue factor* generieren und somit ebenfalls an dem Prozess beteiligt sind (31, 32). Von großer Bedeutung ist, dass das alleinige Vorhandensein von Antikörpern gegen den Heparin/PF4-Komplex nicht zwangsläufig bedeutet, dass ein Patient auch thrombotische Symptome einer HIT entwickelt (30). Deshalb definieren einige Autoren das alleinige Vorhandensein von HIT-Antikörpern als isolierte HIT. Bei Thrombosen wird die HIT dann in Abgrenzung zum asymptomatischen

Verlauf als symptomatische HIT, als *heparin-induced thrombocytopenia/thrombosis syndrome (HITTS)* oder als HIT-T (*HIT with thrombosis*) bezeichnet (33).

Bei Verdacht auf eine HIT muss die Heparintherapie sofort beendet und die Therapie mit einem alternativen Antikoagulanz begonnen werden, um das Risiko von thromboembolischen Ereignissen zu reduzieren. Ein alleiniges Absetzen von Heparin reicht nicht aus, um die Morbidität und Mortalität zu senken (34).

### **1.3 Therapie der HIT bei kritisch Kranken mit direkten Thrombininhibitoren**

Zur intravenösen Therapie der HIT bei kritisch Kranken standen bis vor kurzem zwei direkte Thrombininhibitoren (DTIs), Argatroban und Lepirudin, zur Verfügung. Lepirudin wurde 2012 durch den Hersteller vermutlich aus ökonomischen Überlegungen vom Markt genommen.

#### **1.3.1 Argatroban**

Argatroban, Handelsname Argatra<sup>®</sup>, ist ein erstmals in den 1980er Jahren synthetisch hergestellter direkter Thrombininhibitor, welcher von der Aminosäure L-Arginin abgeleitet worden ist und ein Molekulargewicht von 526 Dalton aufweist (35, 36). Argatroban bindet selektiv und reversibel (37) an Thrombin und hemmt die katalytischen Wirkungen sowohl von frei zirkulierendem Thrombin als auch von an Fibrin gebundenem Thrombin (38). Dies führt zu einer Hemmung der Aktivierung der Gerinnungsfaktoren V, VIII und XIII sowie von Protein C. Des Weiteren werden die Thrombozytenaggregation und die Bildung von Fibrin gehemmt. Die antikoagulatorische Wirkung wird unabhängig von Antithrombin III oder anderen Ko-Faktoren entfaltet (35, 36, 39, 40, 41).

Argatroban interagiert nicht mit PF4-Heparin-Antikörpern. Die Bildung von Argatroban-spezifischen Antikörpern wurde bisher nicht beschrieben (42).

Die Eratzulassung von Argatra<sup>®</sup> in Deutschland erfolgte 2005 für Patienten mit HIT (40, 43). Seit dem 01. Januar 2011 ist Argatra<sup>®</sup> Multidose erhältlich, welches für eine Mehrfachentnahme aus der Durchstechflasche zugelassen ist (40).

Argatroban wird hauptsächlich hepatisch metabolisiert. Eine Dosisanpassung bei Niereninsuffizienz ist daher nicht erforderlich (39). Demgegenüber ist bei Patienten mit mäßiger Leberfunktionsstörung, definiert als Child-Pugh-Score 7 bis 11, eine Dosisanpassung von Beginn an nötig. Für Patienten mit schwerwiegender

Leberfunktionsstörung ist Argatroban kontraindiziert (39, 40, 44, 45). Argatroban wird intravenös, meistens kontinuierlich über eine Spritzenpumpe, verabreicht. Ein Antidot gibt es nicht. Allgemein wird vom Hersteller eine Anfangsdosierung von 2 µg/kg/min empfohlen. Für Intensivpatienten mit Organversagen wurde von unserer Arbeitsgruppe gezeigt, dass eine deutlich niedrigere Dosierung ausreichend ist, um eine effektive Antikoagulation zu erreichen (46). Dies deckt sich mit den Untersuchungen anderer Autoren (47, 48, 49). Mittlerweile wird vom Hersteller eine niedrigere Dosierung für Patienten mit Organversagen und für die postoperative Versorgung von herzchirurgischen Patienten empfohlen. Für die Steuerung der Dosierung ist laut Hersteller die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) zu überwachen. Ein vom Basiswert um das 1,5- bis 3-fache erhöhter aPTT-Wert, welcher jedoch nicht 100 Sekunden übersteigen sollte, wird als Zielbereich für die therapeutische Antikoagulation empfohlen (40).

In zwei Zulassungsstudien wurde die Wirksamkeit und Sicherheit bei der Therapie der HIT untersucht. Hier zeigte sich, dass neue Thrombosen und Tod durch neue Thrombosen unter Argatroban signifikant seltener auftraten. Die häufigsten unerwünschten Arzneimittelwirkungen waren Blutungen und unterschieden sich nicht signifikant von der Kontrollgruppe (50, 51).

### **1.3.2 Lepirudin**

Der direkte Thrombininhibitor Lepirudin, Handelsname Refludan<sup>®</sup>, ist ein 65 Aminosäuren langes, rekombinant hergestelltes Polypeptid mit einem Molekulargewicht von ca. 7000 Dalton und gehört in die Gruppe der Hirudine. Im Gegensatz zu Argatroban bindet Lepirudin irreversibel an Thrombin. Es hemmt die Fibrinbildung und die katalytischen Wirkungen des Thrombins. Hierdurch werden die Aktivierung der Gerinnungsfaktoren V, VIII und XIII und die thrombininduzierte Thrombozytenaktivierung verhindert (52). Das aus dem Blutegel *Hirudo medicinalis* gewonnene Hirudin wurde 1955 isoliert und die Analyse der Wirkweise und Struktur vorangetrieben. Mehrere Isoformen wurden beschrieben (53, 54, 55, 56, 57). Die Gentechnologie erlaubte Mitte der 80er Jahre die Herstellung von größeren Mengen. Rekombinant hergestellte Hirudine werden als r-Hirudine bezeichnet. Bis zur Einführung von Heparin war Hirudin das einzige verfügbare parenteral zu verabreichende Antikoagulant. Bei der Zulassung 1997 war Lepirudin der erste direkte Thrombininhibitor auf dem Markt, der zur Behandlung der HIT zugelassen war (58, 59).

Da Lepirudin hauptsächlich renal eliminiert wird, muss die Dosis bei einer Niereninsuffizienz reduziert werden. Bei einer Kreatinin-Clearance <15 ml/min darf Lepirudin laut Fachinformation nicht appliziert werden, eine bereits laufende Therapie muss gestoppt werden. Einige Autoren empfehlen während einer kontinuierlichen

Nierenersatztherapie eine deutlich niedrigere Anfangsdosierung (0,005 mg/kg KG/h) (58, 59). Während in der Fachinformation ein initialer Bolus von 0,4 mg/kg und eine anschließende kontinuierliche Infusion von 0,15 mg/kg KG/h empfohlen wird, raten einige Autoren dazu, keinen Bolus und eine teils niedrigere kontinuierliche Infusionsrate zu verwenden. Für die Steuerung der Dosierung sollte die Infusionsrate an die aPTT angepasst werden. Der Zielbereich entspricht der 1,5- bis 2,5/3-fachen Verlängerung des Normalwertes (58, 59).

In prospektiven Studien war Lepirudin in Bezug auf die Verhinderung von neuen Thrombosen signifikant überlegen, aber nicht in Bezug auf Amputation und Tod. Das Risiko für starke Blutungen war während der Therapie mit Lepirudin signifikant höher als in der Kontrollgruppe (58, 60, 61, 62). In einer anderen Studie erlitten über 20% der Probanden eine schwere Blutung (63).

Die Bildung von Antihirudin-Antikörpern wurde in 44-74% der mit Lepirudin behandelten Patienten beschrieben. Dies führte bei einigen Patienten zu einer Wirkungsverstärkung, so dass die Dosierung reduziert werden musste (64).

#### **1.4 Therapieüberwachung während der Antikoagulation mit Argatroban oder Lepirudin**

Aufgrund der hohen Thrombosegefahr bedarf eine HIT immer einer therapeutischen alternativen Antikoagulation. Spezifische Antidota sind für die direkten Thrombininhibitoren Argatroban und Lepirudin nicht vorhanden. Deshalb ist ein Monitoring der Gerinnung bei jedem Patienten unerlässlich. Mit den folgenden Parametern ist eine Überwachung der Antikoagulation mit direkten Thrombininhibitoren im klinischen Alltag möglich oder perspektivisch denkbar:

##### **a) aPTT**

Zur Steuerung und Überwachung der Dosierung von Argatroban und Lepirudin wird üblicherweise die aPTT empfohlen. Diese Messung hat den Vorteil, dass sie in allen Kliniken verfügbar und die Interpretation der Messwerte den Behandelnden sehr geläufig ist. Allerdings zeigt die aPTT mit steigender DTI-Dosierung einen Ceiling-Effekt und unterscheidet sich trotz gleicher DTI-Konzentrationen je nach aPTT-Messreagenz zum Teil signifikant voneinander (65, 66, 67).

Gerade bei Intensivpatienten sind mögliche Störfaktoren wie eine erhöhte Baseline-aPTT bedingt durch eine Lebersynthesestörung, disseminierte

intravasale Gerinnung, Lupusantikoagulanz oder Gerinnungsfaktorenmängel beschrieben. Möchte man den antikoagulatorischen Effekt eines Thrombininhibitors messen, können die aPTT-Werte in diesen Fällen unabhängig vom Antikoagulanz deutlich verlängert sein und zu dem falschen Rückschluss führen, dass eine zu starke Antikoagulation vorliegt. Folglich ist eine Unterdosierung eines direkten Thrombininhibitors möglich (68, 69).

#### **b) aPTT *ratio***

Eine weitere Möglichkeit zur Nutzung der aPTT ist die sogenannte aPTT *ratio*. Dabei wird das Verhältnis eines im Verlauf einer antikoagulatorischen Therapie gemessenen Wertes zu dem Ausgangswert vor der Therapie bestimmt, also der x-fache Wert im Vergleich zum Baseline-Wert, wie in der Fachinformation angegeben. Der Vorteil dieser *ratio* ist, dass der individuellen Dynamik besser Rechnung getragen wird. Die Aussagekraft der Messmethode bleibt aber aus den oben genannten Gründen eingeschränkt (40, 59, 60, 69).

#### **c) Thrombinzeit**

Die Thrombinzeit (TZ) unterliegt grundsätzlich weniger Störeinflüssen als die aPTT. Allerdings können sich auch die Messergebnisse der Thrombinzeit je nach Messreagenz und verwendetem Analysegerät bei gleichen Konzentrationen direkter Thrombininhibitoren unterscheiden (66, 70).

Außerdem ist die Messdauer standardmäßig begrenzt, beispielsweise auf 150 Sekunden. Diese Messdauer wird in therapeutischen Dosierungen mit direkten Thrombininhibitoren häufig überschritten (70). Gründe für die Begrenzung sind, dass der Test nicht zum Monitoring einer Therapie mit direkten Thrombininhibitoren gedacht ist und die Messzeit von 150 Sekunden für viele andere Fragestellungen ausreicht. Da bei einer längeren Messzeit die Geräte länger gesperrt sind und bei einem hohen Durchsatz die Anzahl der Messungen beschränkt wäre, hat sich für Routineuntersuchungen die Messdauer von maximal 150 Sekunden bewährt.

#### **d) Plasmaspiegel**

Die quantitative Messung des DTI-Plasmaspiegels mit dem *ecarin chromogenic assay* (ECA), einer Weiterentwicklung des Ecarin-Zeittests, gilt

als am wenigsten störanfällig und wird daher von einigen Autoren empfohlen (69, 70).

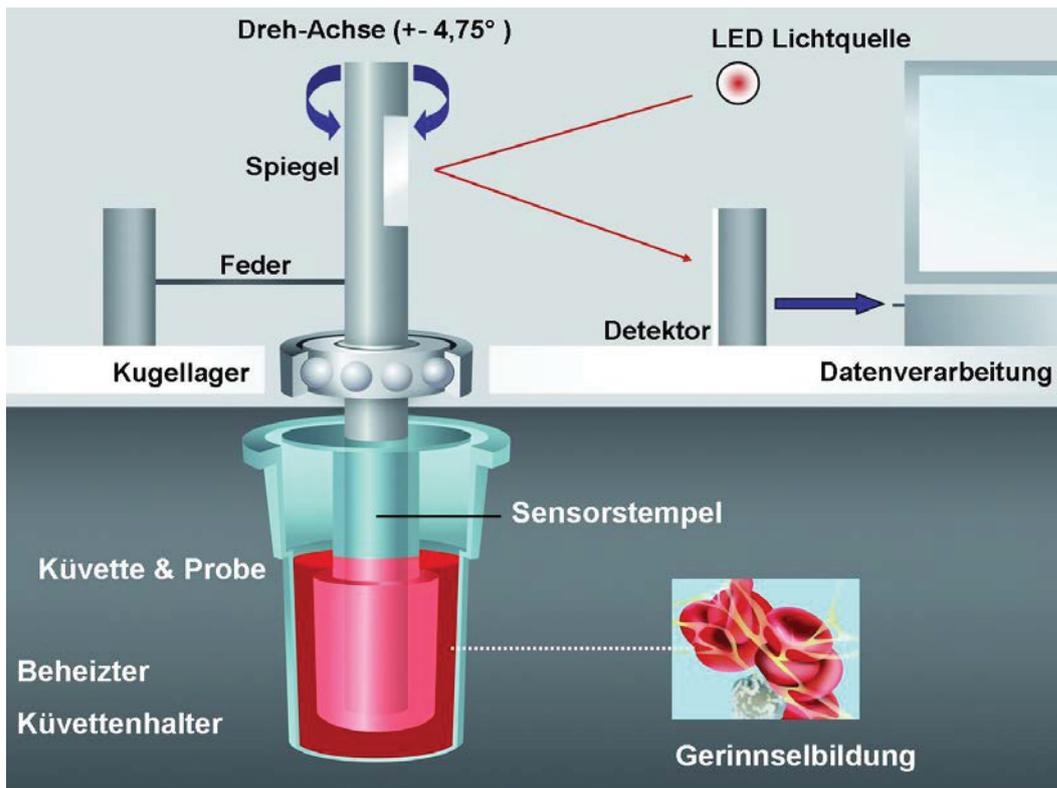
Beim ECA wird die Konzentration der direkten Thrombininhibitoren indirekt bestimmt. Dazu wird in einem Testansatz Prothrombin dem Enzym Ecarin ausgesetzt, welches Prothrombin in zwei Fragmente spaltet, die wiederum ein chromogenes Substrat aktivieren können. Diese Reaktion wird konzentrationsabhängig durch direkte Thrombininhibitoren gehemmt, so dass die Absorption des Testansatzes nach entsprechender Eichung mit dem jeweiligen Thrombininhibitor eine Aussage über die Konzentration zulässt.

Der Test wird weder durch Heparin bzw. Heparin-Antithrombin-III-Komplexe, Prothrombin noch von der Fibrinogenkonzentration im Plasma beeinflusst (71). Dieses Verfahren wird nur in wenigen Laboren eingesetzt und das Ergebnis ist nicht zeitnah bzw. bettseitig verfügbar. Auch gibt es wenige Empfehlungen, welcher Plasmaspiegel im individuellen Behandlungsfall anzustreben ist, und diese beruhen ausschließlich auf klinischen Erfahrungen und sind nicht evidenzbasiert.

Bisher hat sich im klinischen Alltag noch kein Verfahren als Alternative zur aPTT etablieren können, obwohl die aPTT nicht optimal geeignet ist (72, 73). Es gibt Hinweise darauf, dass die Rotationsthrombelastometrie (ROTEM®) ein geeignetes Verfahren darstellen könnte (74, 75).

## **1.5 Die Rotationsthrombelastometrie (ROTEM®)**

Die Rotationsthrombelastometrie (ROTEM®, Tem International GmbH, München) ist ein Verfahren, mit dem die Hämostase durch Messung der viskoelastischen Eigenschaften des Blutes *in vitro* untersucht werden kann. Dazu werden 300 µl Blut und 40 µl Reagenzien in einer Küvette mit Hilfe eines rotierenden Stempels gerührt und währenddessen das Entstehen eines Blutgerinnsels durch einen Lichtsensor detektiert und graphisch dargestellt (siehe Abb. 1).



**Abb. 1: Funktionsprinzip der Rotationsthorbelastometrie (ROTEM®)**  
 (© Tem International GmbH, mit freundlicher Genehmigung)

Durch unterschiedliche Zusammensetzungen der Testansätze und verschiedene Gerinnungsaktivatoren können unterschiedliche Abläufe und Interaktionen des Gerinnungsprozesses erfasst werden. Dazu zählen die Einflüsse von Gerinnungsfaktoren und -inhibitoren, Thrombozyten und des Fibrinogens. Ebenso kann eine eventuelle Fibrinolyse und der Einfluss von Antikoagulanzen untersucht werden.

Während jedes Tests wird die Zeit bis zum Start der Gerinnelbildung (*clotting time* - CT), die Dynamik der Gerinnelbildung (*alpha*-Winkel und Gerinnelbildungszeit *clot formation time* - CFT) sowie die Gerinnelfestigkeit (*maximum clot firmness* - MCF) und die Dauer der Gerinnelbeständigkeit (Lyse-Index 30 Minuten nach CT und maximale Lyse) analysiert (Abb. 2). Als *point-of-care* Methode ist die Messung bettseitig auf Intensivstationen und im Operationssaal möglich. Das Gerät verfügt über einen Computer zur automatischen Auswertung. Die Messergebnisse werden numerisch und graphisch dargestellt.

| ROTEM®-Parameter                   | Bedeutung  | Hauptsächlich beeinflusst durch   |
|------------------------------------|--|---|
| <b>CT (clotting time)</b>          | Zeit vom Start des Tests in Sekunden bis die Amplitude 2 mm erreicht hat               | die Aktivität von Gerinnungsfaktoren, Antikoagulantien                            |
| <b>CFT (clot formation time)</b>   | Zeit vom Erreichen der 2 mm Amplitude in Sekunden bis die Amplitude 20 mm erreicht hat | die Geschwindigkeit der Thrombozyten- und Fibrin-Polymerisation, Antikoagulantien |
| <b>alpha</b>                       | Tangente an der Gerinnungskurve durch den 2 mm Punkt                                   | die Geschwindigkeit der Thrombozyten- und Fibrin-Polymerisation, Antikoagulantien |
| <b>MCF (maximum clot firmness)</b> | Maximale Gerinnselfestigkeit in mm   | Fibrinogen und/oder Thrombozyten  |

| ROTEM®-Reagenz                                  | Gerinnung wird ausgelöst über   | Analoge Messung im konventionellen Labor    |
|---|---|---|
| <b>INTEM (Aktivator: Ellagsäure)</b>            | Intrinsische Gerinnungskaskade  | aPTT  |
| <b>EXTEM (Aktivator: <i>tissue factor</i>)</b>  | Extrinsische Gerinnungskaskade  | Quick, INR                                  |
| <b>FIBTEM (Aktivator: <i>tissue factor</i>)</b> | Extrinsische Gerinnungskaskade, zusätzlich Plättcheninhibition durch Cytochalasin D | Korreliert mit der Fibrinogenkonzentration* |

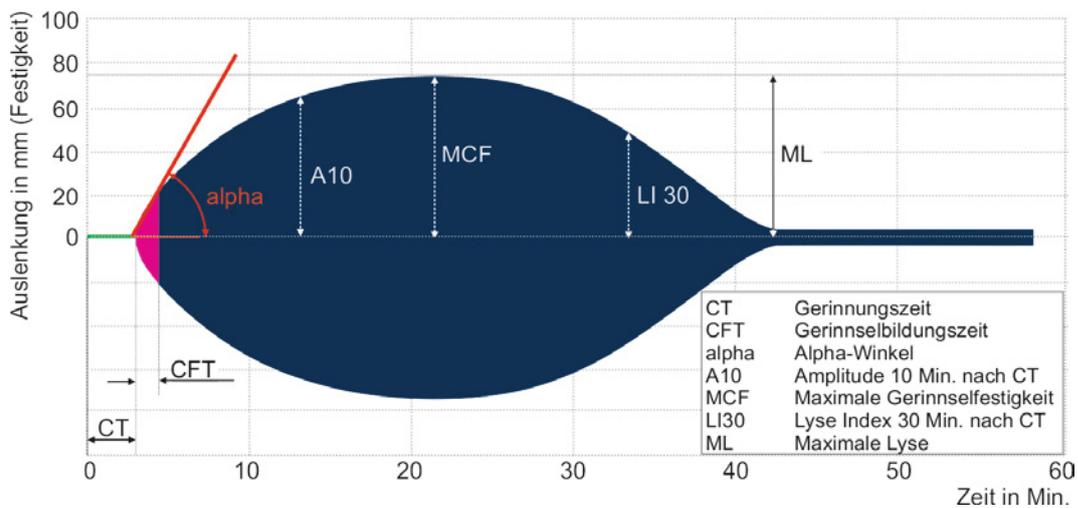
**Abb. 2: Nomenklatur und Bedeutung ausgewählter ROTEM®-Parameter und –Reagenzien**

mm: Millimeter, aPTT: aktivierte partielle Thromboplastinzeit, INR: *International Normalized Ratio*, \*siehe Literaturverzeichnis (76)

Die Rotationsthrombelastometrie (ROTEM®) ist eine Weiterentwicklung der von Hartert 1948 vorgestellten Thrombelastographie (TEG®) (77). Sie wurde 1995 von Calatzis et al. unter dem Namen RoTEG vorgestellt (78). 2003 wurde durch den Hersteller Pentapharm GmbH, München (heute TEM International GmbH, München) der Begriff ROTEM® eingeführt. Die TEG® und die ROTEM® basieren auf dem gleichen viskoelastischen Messprinzip. Es bestehen aber wesentliche Unterschiede in der Bezeichnung der diagnostischen Parameter als auch im Aufbau der Geräte. Da in der hier vorliegenden Arbeit die ROTEM®-Technologie verwendet wurde, wird diese im Weiteren dargestellt.

Eine Küvette, welche fest in einem beheizten Küvettenhalter sitzt, wird mit einer Blutprobe befüllt (siehe Abb. 1). In die Küvette wird ein beweglicher Sensorstempel eingeführt, welcher durch ein Kugellager stabilisiert und durch eine Feder um einen Winkel von 4,75° hin- und hergedreht wird, bis die Messung beendet ist. Wird das Drehen des Sensorstempels durch Fibrinfäden und aggregierte Thrombozyten des Gerinnsels gehemmt, wird dies über einen Lichtsensor detektiert und die Hemmung der Drehung als Amplitude dargestellt. Eine Amplitude von 0 mm beschreibt eine freie Rotation ohne Hemmung der Drehung. Eine Amplitude von 100 mm entspricht einer fehlenden Drehung, wenn diese durch das Blutgerinnsel vollkommen blockiert ist. Die Rotation verhält sich somit umgekehrt proportional zur Gerinnselfestigkeit.

Die graphische Reaktionskurve der Festigkeit über die Zeit wird als TEMogramm bezeichnet (siehe Abb. 3).



**Abb. 3: TEMogramm mit Darstellung der in der Klinik gebräuchlichsten Parameter**  
 (© Tem International GmbH, mit freundlicher Genehmigung)

Das ROTEM®-Gerät verfügt über vier Kanäle, so dass bis zu vier Tests gleichzeitig analysiert werden können. Die gängigsten Tests sind INTEM, EXTEM, APTEM und FIBTEM. Nachfolgend werden nur die Tests erläutert, die von uns in der vorliegenden Arbeit verwendet wurden (siehe auch Abb. 2).

- INTEM:** Mittels Kontaktaktivierung wird die Gerinnung über den intrinsischen Weg eingeleitet. Der Test erlaubt eine schnelle Ermittlung der Zeitdauer bis zur Gerinnselfestigkeit, Fibrinpolymerisation und einer eventuellen Fibrinolyse.
- EXTEM:** Die Aktivierung findet durch Thromboplastin (*tissue factor*) über den extrinsischen Weg statt. Dies ermöglicht eine schnelle Ermittlung der Zeitdauer bis zur Gerinnselfestigkeit, Fibrinpolymerisation und einer eventuellen Fibrinolyse.
- FIBTEM:** Aktivierung wie in EXTEM mit Thromboplastin, zusätzlich werden die Thrombozyten durch Cytochalasin D inhibiert; dies erlaubt eine ROTEM®-Analyse ohne Thrombozyten, wodurch der qualitative Fibrinogen-Status ermittelt und die verlässlichste Aussage zur thrombozytenunabhängigen Gerinnselfestigkeit gemacht werden kann.

Für die ROTEM<sup>®</sup> liegen mehrere Studien in unterschiedlichen Indikationsbereichen aus unterschiedlichen Fachdisziplinen vor. Die Untersuchungen beinhalteten die Überwachung der Hämostase sowie Entscheidungsfindungen zur Transfusionstherapie zum Teil mithilfe eigens entwickelter Algorithmen. So gibt es Untersuchungen für Patientinnen und Patienten nach Trauma (79,80), während Lebertransplantationen (81, 82, 83) und koronaren Bypass-Operationen (84, 85). Die europäischen Leitlinien für perioperative schwere Blutungen geben eine 1C-Empfehlung für eine algorithmusbasierte hämostatische Therapie während koronarer Bypass-OPs mithilfe von *point-of-care* Diagnostik inklusive der ROTEM<sup>®</sup>. Für andere Bereiche wurde der Einsatz befürwortet, Empfehlungen wurden bisher nicht ausgesprochen (86).

Noch kaum untersucht wurde die Frage, ob mit Hilfe der ROTEM<sup>®</sup> eine Überwachung der Therapie von DTIs möglich sein könnte. Eine der wenigen publizierten Untersuchungen widmete sich *in vitro* dem Einfluss von Argatroban. In dieser Studie, in der Blutplasma von 10 gesunden Probanden mit teilweise sehr hohen Argatroban-Konzentrationen versetzt wurde, zeigte sich eine signifikante Korrelation der INTEM Parameter CT, CFT und des alpha-Winkels der ROTEM<sup>®</sup> mit der Argatroban-Plasmakonzentration und der aPTT. Die Autoren schlussfolgern, dass ein Monitoring von Argatroban mit der ROTEM<sup>®</sup> möglich sein könnte (75). Eller et al. zeigten, ebenfalls *in vitro*, dass sich die INTEM CT und EXTEM CT nach Herstellen von Argatroban-Konzentrationen von 0,75 bis 1000 µg/ml signifikant verlängern (87).

Die Auswirkungen von Lepirudin wurden bislang in zwei *in vitro* Studien untersucht. In einer Studie zeigte sich eine geringe Verlängerung der EXTEM CT ab Plasmakonzentrationen von 1 µg/ml (88), während eine andere Untersuchung eine dosisabhängige Verlängerung der INTEM CT und EXTEM CT zeigte (89). Die Autoren schließen daraus, dass auch ein Lepirudin-Monitoring mit der ROTEM<sup>®</sup> möglich sein könnte (88, 89).

Neben der zeitlichen Komponente der Gerinnelbildung ist auch die Gerinnselfestigkeit (*maximum clot firmness* - MCF) ein interessanter Parameter, der klinisch validiert nur mit viskoelastischen Messverfahren wie ROTEM<sup>®</sup> oder TEG<sup>®</sup> messbar ist. Mittels TEG<sup>®</sup> wurden *in vitro* unter anderem verschiedene Konzentrationen für Heparin, Argatroban und Lepirudin untersucht. In einer Studie kam es zur einer Abnahme der Gerinnselfestigkeit unter allen drei Substanzen, in einer anderen konnte dies nur für Heparin nachgewiesen werden (90, 91). Mittels ROTEM<sup>®</sup> konnte eine weitere *in vitro* Studie keine Korrelation zwischen der Argatroban-Konzentration und der INTEM MCF zeigen (75). Feuring et al. fanden *in vitro* eine signifikante Abnahme der EXTEM MCF unter Lepirudin, Sucker et al. erst in supratherapeutischen Konzentrationen (88, 89).

*In vivo* Untersuchungen mit Patientenblut während einer Therapie mit Argatroban oder Lepirudin liegen bisher nicht vor. Es ist daher unklar, ob die ROTEM®-Parameter INTEM CT oder EXTEM CT geeignet sind, den Plasmaspiegel abzuschätzen und die Therapie mit einem direkten Thrombininhibitor zu überwachen.

Weiterhin ist *in vivo* nicht untersucht, ob die DTIs die Gerinnselfestigkeit, gemessen als MCF in INTEM, EXTEM oder FIBTEM, bei kritisch Kranken beeinflussen.

## 1.6 Fragestellung / Ziele der Arbeit

In dieser Arbeit wurden die folgenden Fragen untersucht:

1. Bietet die ROTEM®-Technik mit den Parametern INTEM CT, EXTEM CT oder den *ratios* dieser Werte Messergebnisse, die besser mit dem Plasmaspiegel direkter Thrombininhibitoren korrelieren als die aPTT oder die TZ?
2. Hat die Therapie mit den DTIs Argatroban und Lepirudin einen Einfluss auf die Gerinnselfestigkeit gemessen als MCF in INTEM, EXTEM oder FIBTEM?

### **Erläuterung zum Gesamtprojekt, dessen Bestandteil diese Dissertation ist**

Diese Arbeit ist ein Teilprojekt der klinischen Studie „Argatroban versus Lepirudin in critically ill patients (ALicia): a randomized controlled trial“. Im Rahmen dieser Studie wurden 66 Patientinnen und Patienten mit Verdacht auf HIT untersucht. Als primärer Endpunkt wurde die Lebensdauer von Filtern während kontinuierlicher Hämodiafiltration bei Patientinnen und Patienten, die einer Nierenersatztherapie bedurften, ausgewertet. Des Weiteren wurden Blutungen und thromboembolische Ereignisse bei allen Patientinnen und Patienten untersucht.

In der vorliegenden Arbeit wurden ROTEM®-Messungen bei 35 Patientinnen und Patienten untersucht, die anderen Laborparameter wurden der Hauptstudie entnommen.

Weitere bisher noch nicht veröffentlichte Substudien und deren Doktoranden:

- Screening von chirurgischen Intensivpatienten auf eine heparininduzierte Thrombozytopenie, Johann Kemper.
- Untersuchung von thromboembolischen Komplikationen, Astrid Bahlmann.
- Untersuchung der Steuerbarkeit der DTIs, Tobias Brezina.

Die Hauptegebnisse der Studie wurden in *Critical Care* publiziert (92).

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Probanden und Probengewinnung

Diese Untersuchungen sind eine Substudie der klinischen Prüfung „Argatroban versus Lepirudin in critically ill patients“, kurz ALicia-Studie (ClinicalTrials.gov NCT00798525; EudraCT Nummer 2006-003122-28) (92). Mit Genehmigung der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (Studiennummer MO-LKP-310, 19. Dezember 2008) wurden Patientinnen und Patienten der operativen Intensivstation ZOM I untersucht, die im Rahmen der doppelblinden Studie entweder Argatroban oder Lepirudin als alternatives Antikoagulanz bei Verdacht auf HIT erhielten. Es galten folgende Einschlusskriterien: erwarteter Intensivaufenthalt >24 Stunden, Alter  $\geq 18$  Jahre, V.a. HIT mit Thrombozytenabfall >50% im Vergleich zum Baseline-Wert und länger als 24 Stunden andauernd, 4 T-Score >3 oder positiver PF4/Heparin ELISA (93). Als Ausschlusskriterien galten: aktive Blutung, intracranieller Eingriff, Spontan-aPTT>60 Sekunden, zuvor bekannte HIT, bekannte Allergien gegen die Studienmedikation und Schwangerschaft. Die Zuordnungen der Patientinnen und Patienten zu den Gruppen fanden durch computergenerierte 1:1 Block-Randomisierung statt.

#### Verblindung

Sowohl die behandelnden Ärztinnen und Ärzte, das Studienpersonal, welches die Daten erhob und die Patientinnen und Patienten waren gegenüber der Studienmedikation verblindet. Personen, die mit der Herstellung der Studienmedikation beauftragt waren, erhoben keine Daten. Die Studienmedikation wurde in einer an die Leber- bzw. Nierenfunktion angepassten Konzentration in 50 ml Spritzen aufgezogen, um bei jedem Studienteilnehmer mit einer Laufrate von 0,05 ml/kg/Stunde beginnen zu können (92).

Nach Etablierung der Abläufe in der Hauptstudie und nach Unterweisung der Mitarbeiter in das ROTEM<sup>®</sup>-Gerät durch den Hersteller wurde die erste ROTEM<sup>®</sup>-Messung ab Patient 30 der Hauptstudie begonnen und bis zum letzten Patienten der Hauptstudie fortgeführt. Damit war zum Zeitpunkt der ROTEM<sup>®</sup>-Messungen die Studienmedikation in den untersuchten Proben nicht bekannt. Diese wurde erst nach Abschluss aller anderen Datenerhebungen und offiziellem *close-out* der Datenbank bekannt gegeben.

## 2.2 ROTEM<sup>®</sup>-Tests

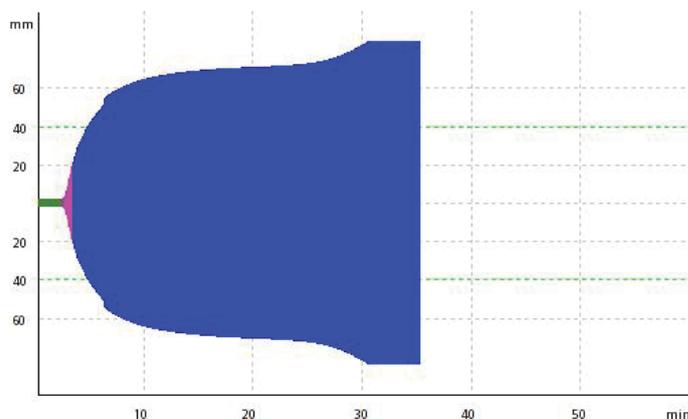
Es wurde ein ROTEG 05 (Pentapharm GmbH München, heute TEM International GmbH) nach einer Unterweisung des Herstellers verwendet. Das Gerät ist als *point-of-care* Methode in die klinische Routine der Station eingebunden.

Die Tests wurden standardisiert mithilfe des automatischen Pipettierprogramms des ROTEM<sup>®</sup>-Geräts angesetzt und bei 37°C gemessen. Zum Citratblut der Patienten wurden die vom Hersteller erhältlichen gebrauchsfertigen Reagenzien in-tem<sup>®</sup>, ex-tem<sup>®</sup>, fib-tem<sup>®</sup> und star-tem<sup>®</sup> gegeben. Die Zusammensetzung der Reagenzien ist im Anhang aufgeführt.

Pro Patient wurden drei Tests durchgeführt: 1) INTEM, 2) EXTEM und 3) FIBTEM. Wurde ein Test nach wenigen Minuten durch das Gerät automatisch mit einer Fehlermeldung beendet, wurde mit der gleichen Patientenblutprobe ein neuer Test angesetzt.

### Methoden zur Validierung der ROTEM<sup>®</sup>-Messungen und Plausibilitätskontrolle

Messungen, bei denen vom ROTEM<sup>®</sup>-Gerät ein Fehlercode generiert worden ist, wurden zur Beurteilung an den TEM<sup>®</sup>-Support München gesendet. Hierunter fielen unter anderem Proben, die während der Analyse früh getrocknet waren (exemplarisch siehe Abb. 4).

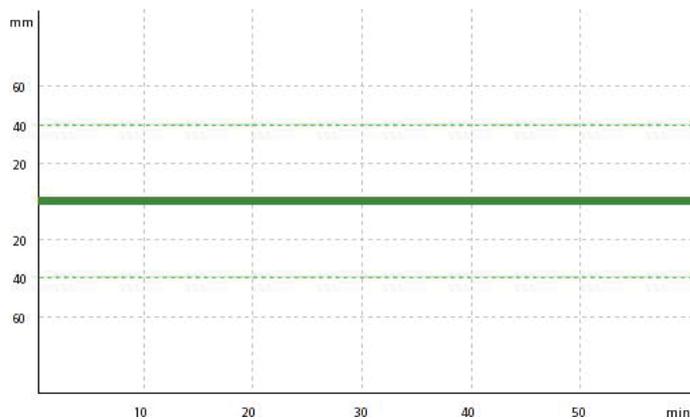


**Abb. 4: TEMogramm mit Austrocknungseffekt**

Zu sehen ist ein abrupter Kurvenanstieg nach ca. 6 und 26 Minuten. Derartige Messungen wurden nicht verwertet, mm: Millimeter, min: Minuten

Bei einigen Messungen setzte eine Trocknung nach einer Stunde ein. Falls die Messungen ansonsten nicht beanstandet worden waren, wurden die Messwerte vor dem Trocknungseffekt verwertet. Einige Messungen der MCF waren mit einem Sternchen (\*) versehen. Hier war möglicherweise der Maximalwert noch nicht erreicht worden. Diese Messungen wurden verwertet. Die tatsächlichen MCF-Werte entsprachen also mindestens dem ermittelten Wert. Es wurden Messungen angesetzt, die keine Auslenkung im TEMogramm und keine Messwerte generierten. Hier wurde eine tatsächliche Hypokoagulabilität des Patienten durch eine Plausibilitätskontrolle mithilfe der

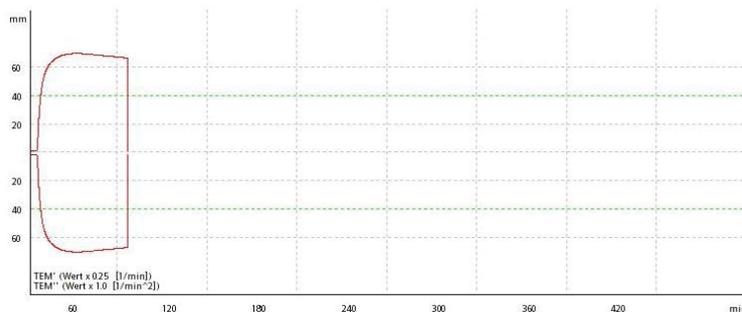
anderen zeitgleich durchgeführten ROTEM®-Messungen und Standardlaborparametern ausgeschlossen (als Beispiel siehe Abb. 5).



**Abb. 5: TEMogramm ohne einsetzende Gerinnung**

mm: Millimeter, min: Minuten

Falls eine Messung nicht durch Anklicken eines Feldes auf der Benutzeroberfläche, sondern durch Abziehen des Küvettenhalters beendet wurde, wurde ebenfalls ein Fehlercode generiert. Bei der Ansicht des TEMogramms mit einer geänderten Zeitachse lässt sich dies an einem abrupten Abfall der Auslenkung auf 0 mm erkennen (siehe Abb. 6). Falls eine Fibrinolyse untersucht wird, hat dies Auswirkungen auf die Analyse; auf die von uns analysierten Parameter hat dies aber keinen Effekt.



**Abb. 6: TEMogramm mit geänderter Zeitachse**

mm: Millimeter, min: Minuten

Dargestellt ist ein abrupter Abfall der Gerinnselfestigkeit. Dieses Artefakt entsteht, wenn der Küvettenhalter während einer noch laufenden Messung abgezogen wird.

## 2.3 Datengewinnung und Auswertung

Die Messergebnisse der ROTEM<sup>®</sup> wurden vom ROTEG 05-Gerät als .txt-Dateien in Microsoft Excel<sup>®</sup>-Tabellen und nach SPSS<sup>®</sup> importiert. Die folgenden Parameter wurden zur statistischen Auswertung herangezogen (siehe Tabelle 1).

| ROTEM <sup>®</sup> -Test | Parameter   | Normalwert                           |
|--------------------------|---|--------------------------------------|
| INTEM                    | CT ( <i>clotting time</i> )<br>MCF ( <i>maximum clot firmness</i> ) | 100-240 Sekunden<br>50-72 Millimeter |
| EXTEM                    | CT ( <i>clotting time</i> )<br>MCF ( <i>maximum clot firmness</i> ) | 38-79 Sekunden<br>50-72 Millimeter   |
| FIBTEM                   | MCF ( <i>maximum clot firmness</i> )                                | 9-25 Millimeter                      |

**Tabelle 1: Ausgewertete Parameter der ROTEM<sup>®</sup>-Tests mit Normalwerten**

Allen anderen Gerinnungsparametern liegt der Datensatz der Hauptstudie zugrunde: Die Routineparameter aPTT (Pathromtin<sup>®</sup> SL), TZ (BC<sup>®</sup> Thrombin) und Quick-Wert (Thromborel<sup>®</sup> S) wurden im Rahmen der klinischen Routine im Labor des Instituts für Hämostaseologie, Hämotherapie und Transfusionsmedizin des Universitätsklinikums Düsseldorf mit Citratblutröhrchen (0,109 mol/l, BD Vacutainer, Heidelberg, Deutschland) auf einem Behring Coagulation System, BCS Analyzer, Siemens, Marburg analysiert (Normalwerte: aPTT: 26 bis 37 Sekunden, TZ: 17 bis 22 Sekunden, Quick: >70%).

Für die Plasmaspiegelbestimmung von Argatroban und Lepirudin mittels *ecarin chromogenic assay* (ECA, Diagnostica Stago, Asnières sur Seine, Frankreich), angepasst an BCS Analyzer, wurde für jede Messung ein Citratblutröhrchen zentrifugiert, anschließend das Plasma in Mikroreaktionsgefäße gefüllt und bei -80°C eingefroren. Die Messung der Medikamenten-Plasmaspiegel erfolgte im Batch-Verfahren im Institut für Hämostaseologie, Hämotherapie und Transfusionsmedizin des Universitätsklinikums Düsseldorf.

Es wurden Messungen mit der ROTEM<sup>®</sup> jeweils vor Beginn der Studienmedikation sowie 12, 24, 48 und 72 Stunden nach Start der Studienmedikation durchgeführt. Wichen die tatsächlichen Zeitpunkte der ROTEM<sup>®</sup>-Messung um mehr als  $\pm 6$  Stunden von den geplanten Zeitpunkten ab, wurden diese Messungen nicht verwertet.

Bestimmungen der Medikamenten-Plasmaspiegel von Argatroban und Lepirudin fanden für die Zeitpunkte 12, 24, 48 und 72 Stunden nach Start der Studienmedikation statt.

Da für jeden Patienten die Routineparameter der Gerinnung gemäß eines am individuellen Bedarf orientierten Schemas durchgeführt wurden, liegen nicht immer zu identischen Messzeitpunkten individuelle Werte vor. Die folgenden Parameter wurden daher linear interpoliert: aPTT, Quick und TZ.

### **Ratios der aPTT, TZ, INTEM CT, EXTEM CT und des Quick-Wertes**

Um einen möglichen Einfluss von erhöhten Baseline-Werten vor Beginn der Studienmedikation zu reduzieren, wurde jeweils der Quotient aus den einzelnen aPTT-, TZ-, INTEM CT-, EXTEM CT- und Quick-Werten zu den Zeitpunkten 12 bis 72 Stunden mit den Baseline-Werten gebildet und als *ratio* dargestellt.

## **2.4 Statistische Auswertung**

Die statistischen Auswertungen wurden mit IBM® SPSS® Statistics Version 22 (New York, USA) durchgeführt.

Die Testung auf Normalverteilung mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test ergab überwiegend nicht normalverteilte Stichproben, deshalb wurden durchgängig nicht parametrische Tests angewandt. Deskriptive Statistiken werden als Mediane und Quartile, Graphiken als Boxplots gezeigt. Die T-Balken sind auf maximal das 1,5-fache des Interquartilsabstands beschränkt. Ausreißer werden als Kreise dargestellt, extreme Ausreißer als Sternchen. Sofern Ausreißer und Extremwerte zu sehen waren, wurden Analysen mit diesen Werten und nach Herausnahme dieser Werte durchgeführt. Nur falls sich dadurch eine Änderung der Signifikanz ergab, sind die Werte nach Herausnahme der Ausreißer und Extremwerte im Ergebnisteil aufgeführt. Ansonsten sind diese separaten Analysen im Anhang zu sehen. Für die Analyse von zwei unabhängigen Stichproben wurde der Mann-Whitney-U-Test, für die Analyse von zwei abhängigen Stichproben der Wilcoxon-Rangsummen-Test gewählt. Angegeben sind die exakten Signifikanzen. Für die Korrektur einer Alphafehler-Kumulierung bei multiplen Testen wurde die Bonferroni-Korrektur durchgeführt. Daher galt für die Vergleiche zwischen den Gruppen ein  $p < 0,01$ , für die Vergleiche innerhalb einer Gruppe über die Zeit ein  $p < 0,0125$  als statistisch signifikant. Korrelationen wurden nach Spearman berechnet, ein  $p < 0,01$  galt – wenn nicht anders vermerkt – als statistisch signifikant.

### 3 Ergebnisse

In der Zeit vom 22.02.2010 bis zum 13.11.2011 wurden 36 Patientinnen und Patienten mit Verdacht auf HIT eingeschlossen, von denen allerdings in einem Fall nur Messungen vor Beginn der Studienmedikation vorlagen, so dass dieser Fall nicht berücksichtigt wurde. Daher konnten Messungen von 35 Patientinnen und Patienten ausgewertet werden, von denen 17 mit Argatroban und 18 mit Lepirudin behandelt wurden. Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Patientencharakteristika der Gruppen (siehe Tabelle 2).

Ein Vergleich wichtiger Laborparameter zwischen den Patientinnen und Patienten der beiden Gruppen ist in Tabelle 3 aufgeführt. Die Gerinnungsparameter, das Blutbild und die meisten Werte der klinischen Chemie unterschieden sich nicht signifikant voneinander. Lediglich die Werte für Calcium und Lactat waren signifikant unterschiedlich.

Von diesen 35 Patientinnen und Patienten wurden 161 Blutproben in Citratblutröhrchen gewonnen, mit denen 478 ROTEM®-Messungen durchgeführt wurden (siehe Abb. 7).

| Parameter                                  | Argatroban<br>n=17        | Lepirudin<br>n=18         | p-Wert |
|--|---------------------------|---------------------------|--------|
| <b>Geschlecht</b>                          | männlich=12<br>weiblich=5 | männlich=10<br>weiblich=8 | 0,463  |
| <b>Alter (Jahre)</b>                       | 71 (69/77)                | 65 (42/72)                | 0,053  |
| <b>Größe (cm)</b>                          | 171 (167/179)             | 173 (162/177)             | 0,732  |
| <b>Gewicht (kg)</b>                        | 90 (77/103)               | 78 (59/90)                | 0,067  |
| <b>BMI</b>                                 | 28 (25/35)                | 25 (23/30)                | 0,126  |
| <b><u>Status bei Studieneinschluss</u></b> |                           |                           |        |
| <b>RR systolisch (mmHg)</b>                | 120 (113/135)             | 115 (109/141)             | 0,684  |
| <b>RR diastolisch (mmHg)</b>               | 55 (50/63)                | 55 (50/66)                | 0,757  |
| <b>MAD (mmHg)</b>                          | 78 (69/93)                | 76 (67/84)                | 0,443  |
| <b>Herzfrequenz (/min)</b>                 | 90 (81/105)               | 92 (75/108)               | 0,883  |
| <b>GCS</b>                                 | 7 (3/14)                  | 3 (3/10)                  | 0,232  |
| <b>SAPS</b>                                | 34 (27/46)                | 33 (24/48)                | 0,732  |
| <b>SOFA score</b>                          | 10 (7/13)                 | 10 (9/13)                 | 0,636  |

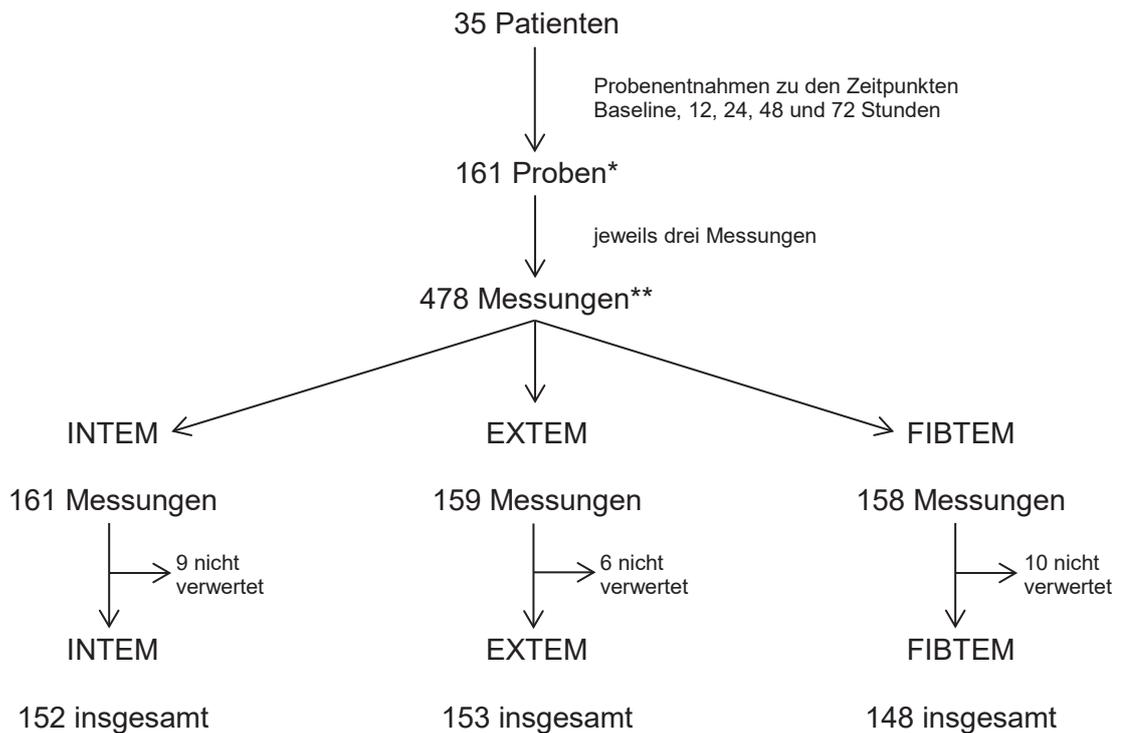
**Tabelle 2: Vergleich der Patientinnen und Patienten in den beiden Behandlungsgruppen vor Gabe der Studienmedikation**

Gezeigt sind Mediane sowie untere und obere Quartile in Klammern (Q<sub>1</sub>/Q<sub>3</sub>), cm: Zentimeter, kg: Kilogramm, BMI: *Body Mass Index*, RR: Blutdruck nach Riva-Rocci, mmHg: Millimeter-Quecksilbersäule, MAD: mittlerer arterieller Blutdruck, min: Minute, GCS: *Glasgow Coma Scale*, SAPS: *Simplified Acute Physiology Score*, SOFA: *Sequential Organ Failure Assessment*, ein p<0,05 galt als statistisch signifikant.

| Parameter                             | Argatroban<br>n=17 | Lepirudin<br>n=18 | p-Wert |
|---------------------------------------|--------------------|-------------------|--------|
| aPTT (s)                              | 43 (41/55)         | 45 (38/51)        | 0,732  |
| Quick (%)                             | 80 (64/97)         | 84 (71/92)        | 0,832  |
| <i>International Normalized Ratio</i> | 1,1 (1,1/1,3)      | 1,1 (1,1/1,2)     | 0,807  |
| Thrombinzeit (s)                      | 18 (17/25)         | 18 (17/20)        | 0,568  |
| Fibrinogen nach Clauss (mg/dl)        | 751 (547/920)      | 710 (635/834)     | 0,851  |
| Antithrombin-Aktivität (%)            | 73 (69/90)         | 81 (67/100)       | 0,467  |
| Leukozyten (/nl)                      | 10,3 (9,5/14,5)    | 11,8 (7,3/23,3)   | 0,684  |
| Erythrozyten (/pl)                    | 3,4 (3,1/3,7)      | 3,1 (3/3,5)       | 0,184  |
| Hämoglobin (g/dl)                     | 9,7 (9,1/10,6)     | 9,3 (8,9/9,9)     | 0,219  |
| Hämatokrit (%)                        | 30,9 (28,5/33,5)   | 29,4 (27,6/31,5)  | 0,077  |
| Thrombozyten (/nl)                    | 101 (50/196)       | 102 (64/247)      | 0,386  |
| Natrium (mmol/l)                      | 142 (137/146)      | 140 (138/144)     | 0,763  |
| Kalium (mmol/l)                       | 4,4 (4,1/4,7)      | 4,5 (4,3/4,8)     | 0,363  |
| Calcium, frei (mmol/l)                | 1,17 (1,12/1,21)   | 1,22 (1,16/1,25)  | 0,026* |
| Kreatinin (mg/dl)                     | 1,5 (1,1/2,6)      | 1,4 (0,9/2,3)     | 0,658  |
| Harnstoff (mg/dl)                     | 86 (59/114)        | 84 (49/132)       | 0,865  |
| Totalprotein (g/dl)                   | 5,3 (5,3/5,7)      | 5,7 (5,5/5,9)     | 0,299  |
| Albumin (g/dl)                        | 2,5 (2,1/2,8)      | 2,3 (2/2,6)       | 0,503  |
| Bilirubin gesamt (mg/dl)              | 0,8 (0,5/2)        | 1,7 (0,8/5,8)     | 0,118  |
| GOT (U/l)                             | 67 (46/236)        | 111 (53/154)      | 0,606  |
| GPT (U/l)                             | 116 (46/220)       | 57 (37/112)       | 0,145  |
| γ-GT (U/l)                            | 114 (54/347)       | 190 (99/318)      | 0,497  |
| Lactatdehydrogenase (U/l)             | 389 (299/518)      | 465 (332/622)     | 0,401  |
| CK gesamt (U/l)                       | 118 (22/214)       | 236 (25/894)      | 0,161  |
| CK-MB (U/l)                           | 15 (3/37)          | 26 (18/66)        | 0,310  |
| Troponin T (ng/ml)                    | 0,26 (0,07/2,6)    | 0,17 (0,11/1,1)   | 0,841  |
| C-reaktives Protein (mg/dl)           | 17,3 (10,2/21,9)   | 19,2 (11,6/26,6)  | 0,381  |
| Glucose (mg/dl)                       | 124 (100/146)      | 128 (124/145)     | 0,259  |
| Lactat (mmol/l)                       | 1 (0,7/1,3)        | 1,3 (1,1/1,7)     | 0,018* |

**Tabelle 3: Vergleich der Laborparameter zwischen beiden Gruppen vor Gabe der Studienmedikation**

Gezeigt sind Mediane sowie untere und obere Quartile in Klammern ( $Q_1/Q_3$ ). aPTT: aktivierte partielle Thromboplastinzeit, s: Sekunde, mg: Milligramm, dl: Deziliter, nl: Nanoliter, pl: Pikoliter, g: Gramm, mmol: Millimol, l: Liter, U: Enzymeinheit, GOT: Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, GPT: Glutamat-Pyruvat-Transaminase, γ-GT: Gamma-Glutamyl-Transferase, CK: Kreatinkinase, CK-MB: *muscle-brain type* Kreatinkinase, \*=statistisch signifikant, ein  $p < 0,05$  galt als statistisch signifikant



**Abb. 7: Anzahl der Patienten sowie der abgenommenen Proben und Darstellung der durchgeführten ROTEM®-Messungen nach Messart und der letztlich verwerteten Messungen**

\*Probenentnahmen waren an 35 Patienten zu den Zeitpunkten Baseline (vor dem Start der Studienmedikation) sowie nach 12, 24, 48 und 72 Stunden nach Start der Studienmedikation geplant. 14 Probenentnahmen fehlen, da Patienten im Verlauf aus der Studie ausschieden oder sich zum geplanten Abnahmezeitpunkt im OP befanden.

\*\*Fünf Messungen fehlen (automatischer Messabbruch oder Messungen konnten nicht angesetzt werden, da der Kanal blockiert war oder kein Reagenz vorhanden war).

478 Messungen wurden erfolgreich angesetzt. Diese wurden intern evaluiert und auf Plausibilität überprüft. Wenn das ROTEM®-Gerät Fehlercodes generierte, wurden die TEMogramme mit Messwerten zur Überprüfung an den TEM®-Support in München gesandt. Zehn Messungen konnten deshalb nicht für die Auswertung herangezogen werden, vier weitere aufgrund von fehlenden Auslenkungen im TEMogramm und elf Messungen fanden nicht im definierten Zeitfenster statt.

### 3.1 Validierung der ROTEM<sup>®</sup>-Messungen und Plausibilitätskontrolle

Insgesamt 25 Messungen wurden nicht verwertet: Zehn Messungen aufgrund eines Trocknungseffektes, vier mangels Auslenkung im TEMogramm, elf Messungen entstanden außerhalb des Zeitfensters von  $\pm 6$  Stunden (siehe Abb. 7).

Bei fünf Messungen wurde der Küvettenhalter vor Beendigung der Messung entfernt, diese Werte wurden verwertet.

Die Anzahl der ausgewerteten Messungen pro Zeitpunkt ist in Tabelle 4 aufgeführt.

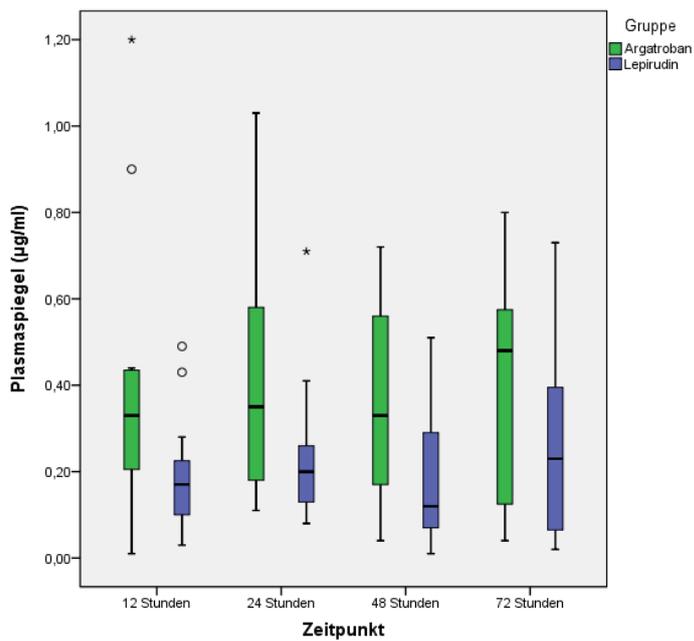
| Gruppe:           | INTEM      |           | EXTEM      |           | FIBTEM     |           | insgesamt  |            |
|-------------------|------------|-----------|------------|-----------|------------|-----------|------------|------------|
|                   | Argatroban | Lepirudin | Argatroban | Lepirudin | Argatroban | Lepirudin | Argatroban | Lepirudin  |
| <b>Zeitpunkt:</b> |            |           |            |           |            |           |            |            |
| <b>Baseline</b>   | 17         | 16        | 17         | 18        | 16         | 18        | 50         | 52         |
| <b>12 Stunden</b> | 14         | 17        | 13         | 17        | 13         | 17        | 40         | 51         |
| <b>24 Stunden</b> | 17         | 17        | 16         | 18        | 15         | 18        | 48         | 53         |
| <b>48 Stunden</b> | 14         | 16        | 13         | 16        | 13         | 16        | 40         | 48         |
| <b>72 Stunden</b> | 11         | 13        | 11         | 14        | 9          | 13        | 31         | 40         |
| <b>Summe</b>      | <b>73</b>  | <b>79</b> | <b>70</b>  | <b>83</b> | <b>66</b>  | <b>82</b> | <b>209</b> | <b>244</b> |

**Tabelle 4: Anzahl der ausgewerteten Messungen nach Gruppen und Zeitpunkt für die ROTEM<sup>®</sup>-Messungen INTEM, EXTEM, FIBTEM und insgesamt.**

Baseline: Messung vor Gabe der Studienmedikation; 12, 24, 48 und 72 Stunden: Zeitpunkt der Messung nach Studienstart

### 3.2 Die Plasmaspiegel der direkten Thrombininhibitoren

In der Argatroban-Gruppe betrug der mittlere Plasmaspiegel über die gesamte Studiendauer 0,35 µg/ml (Q25: 0,18; Q75: 0,57; Min.: 0,01; Max.: 1,2 µg/ml). In der Lepirudin-Gruppe wurde ein mittlerer Plasmaspiegel von 0,17 µg/ml (Q25: 0,1; Q75: 0,32; Min.: 0,01; Max.: 0,73 µg/ml) erreicht. Damit wies Argatroban etwa doppelt so hohe Plasmaspiegel auf wie Lepirudin (U=85; z=-2,24; p=0,025). Die Entwicklung der Plasmaspiegel pro Gruppe über die Zeit ist in Abb. 8 dargestellt.



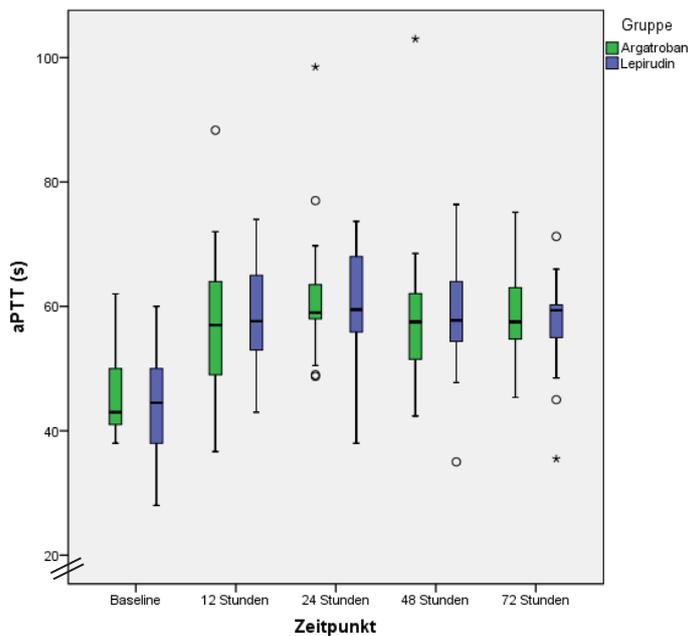
**Abb. 8: Plasmaspiegel von Argatroban und Lepirudin über die Studiendauer**

Median und Quartile sowie 1,5xIQR, °=Ausreißer, \*=Extremwerte, zu den Zeitpunkten 12, 24, 48 und 72 Stunden nach Start der Studienmedikation, µg: Mikrogramm, ml: Milliliter

### 3.3 Intrinsisches Gerinnungssystem

#### 3.3.1 Verlauf der aPTT

Innerhalb der Argatroban- und der Lepirudin-Gruppe stiegen die aPTT-Werte nach Start der Studienmedikation signifikant an. Weder vor Beginn der Studienmedikation noch während der Behandlung zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen (Abb. 9, Tabelle 5).



**Abb. 9: Verlauf der aPTT-Werte zwischen der Argatroban- und Lepirudin-Gruppe**

Median und Quartile sowie 1,5xIQR, °=Ausreißer, \*=Extremwerte, zu den Zeitpunkten Baseline und 12, 24, 48 und 72 Stunden nach Start der Studienmedikation, s: Sekunde

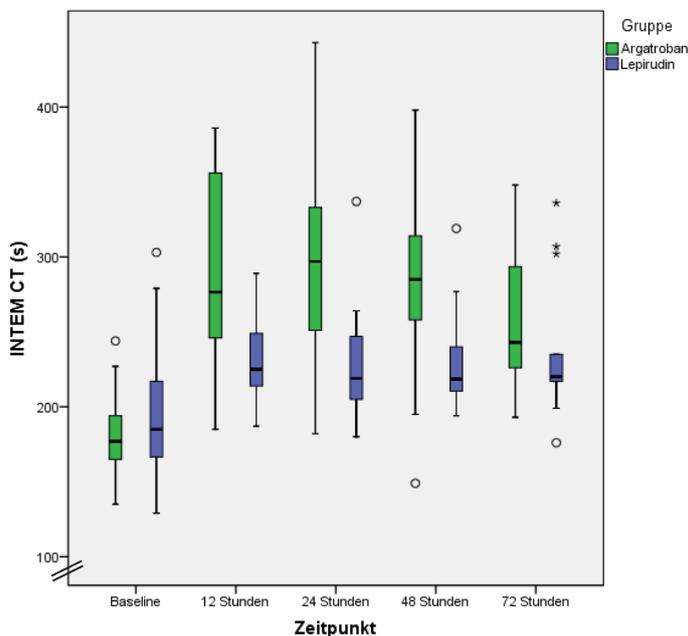
|  | Zeitpunkt              | U     | z     | p       |
|--|------------------------|-------|-------|---------|
| <b>Vergleich zwischen der Argatroban- und Lepirudin-Gruppe</b> | Baseline               | 142,5 | -0,35 | 0,73    |
|  | 12 Stunden             | 148   | -0,17 | 0,88    |
|  | 24 Stunden             | 143   | -0,33 | 0,76    |
|  | 48 Stunden             | 121   | -0,54 | 0,61    |
|  | 72 Stunden             | 102,5 | -0,07 | 0,95    |
| <b>Vergleich innerhalb der Argatroban-Gruppe</b>               | Baseline zu 12 Stunden | n. z. | -2,82 | 0,005*  |
|  | Baseline zu 24 Stunden | n. z. | -3,24 | 0,001*  |
|  | Baseline zu 48 Stunden | n. z. | -2,74 | 0,006*  |
|  | Baseline zu 72 Stunden | n. z. | -2,9  | 0,004*  |
| <b>Vergleich innerhalb der Lepirudin-Gruppe</b>                | Baseline zu 12 Stunden | n. z. | -3,55 | <0,001* |
|  | Baseline zu 24 Stunden | n. z. | -3,68 | <0,001* |
|  | Baseline zu 48 Stunden | n. z. | -3,29 | 0,001*  |
|  | Baseline zu 72 Stunden | n. z. | -3,16 | 0,002*  |

\*=statistisch signifikant

**Tabelle 5: Vergleich der aPTT zwischen und innerhalb der Gruppen**

### 3.3.2 Dauer bis zum Start der Gerinnselbildung: INTEM CT

Zwischen der Argatroban- und der Lepirudin-Gruppe gab es zum Zeitpunkt Baseline keine signifikanten Unterschiede der INTEM CT (Abb. 10, Tabelle 6). In der Argatroban-Gruppe wurden zu den Zeitpunkten 12, 24 und 48 Stunden signifikant höhere INTEM CT-Werte erreicht als in der Lepirudin-Gruppe. In der Argatroban-Gruppe verlängerte sich die INTEM CT zu allen Zeitpunkten signifikant im Vergleich zur Baseline. In der Lepirudin-Gruppe war der Anstieg statistisch nicht signifikant. Bleiben Ausreißer und Extremwerte in der Lepirudin-Gruppe unberücksichtigt, war die INTEM CT nach 12 und 72 Stunden im Vergleich zur Baseline signifikant erhöht. Damit verlängerte sich nur während der gesamten Argatroban-Therapie die Zeit bis zum Start der Gerinnselbildung signifikant.



**Abb. 10: Vergleich der INTEM CT zwischen der Argatroban- und Lepirudin-Gruppe**

Median und Quartile sowie 1,5xIQR, °=Ausreißer, \*=Extremwerte, zu den Zeitpunkten Baseline und 12, 24, 48 und 72 Stunden nach Start der Studienmedikation, s: Sekunde

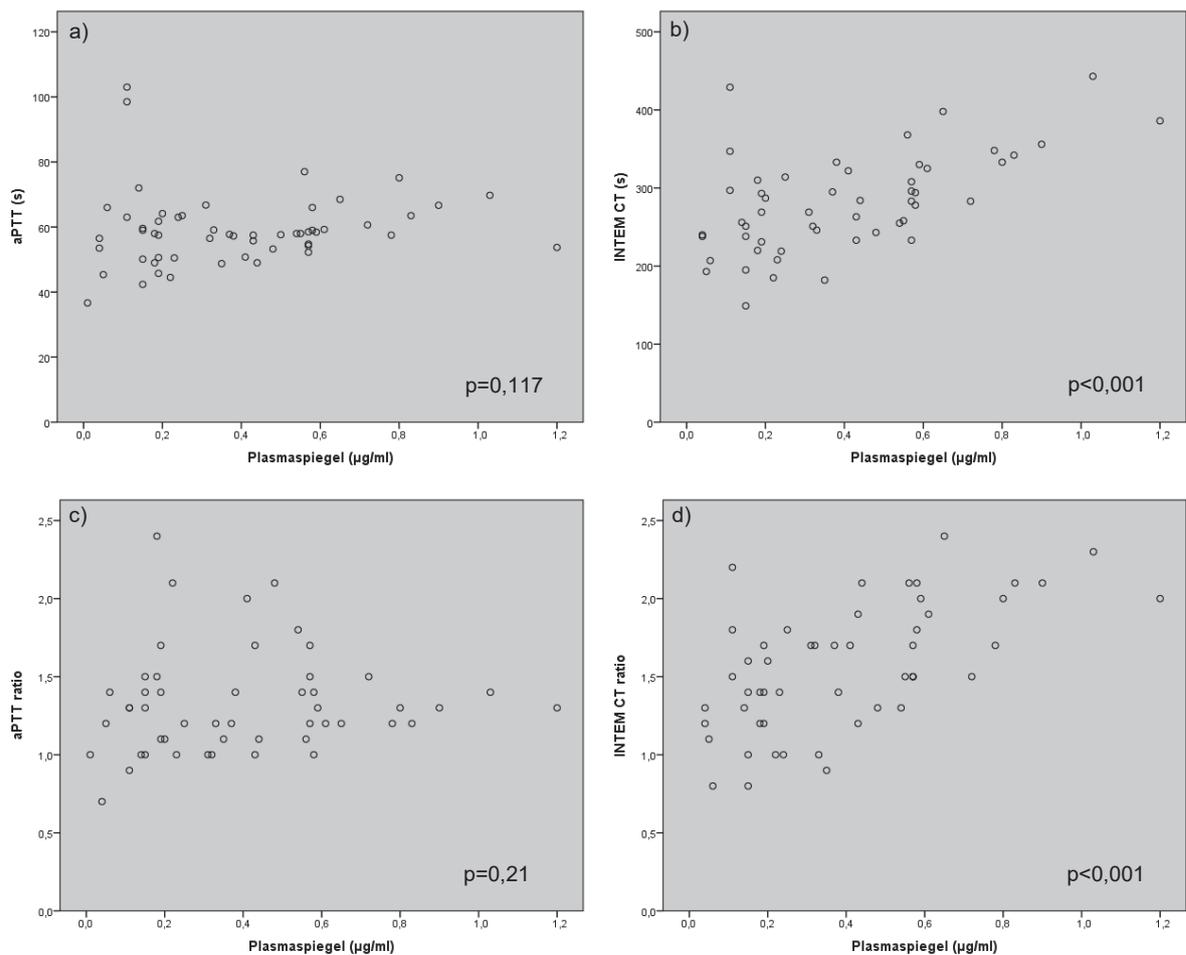
|  | Zeitpunkt              | U     | z     | p       |
|--|------------------------|-------|-------|---------|
| <b>Vergleich zwischen der Argatroban- und Lepirudin-Gruppe</b> | Baseline               | 119,5 | -0,6  | 0,56    |
|  | 12 Stunden             | 48,5  | -2,8  | 0,004*  |
|  | 24 Stunden             | 53    | -3,15 | 0,001*  |
|  | 48 Stunden             | 46    | -2,74 | 0,005*  |
|  | 72 Stunden             | 50,5  | -1,22 | 0,228   |
| <b>Vergleich innerhalb der Argatroban-Gruppe</b>               | Baseline zu 12 Stunden | n. z. | -3,17 | 0,002*  |
|  | Baseline zu 24 Stunden | n. z. | -3,58 | <0,001* |
|  | Baseline zu 48 Stunden | n. z. | -3,05 | 0,002*  |
|  | Baseline zu 72 Stunden | n. z. | -2,58 | 0,01*   |
| <b>Vergleich innerhalb der Lepirudin-Gruppe</b>                | Baseline zu 12 Stunden | n. z. | -2,24 | 0,025   |
|  | Baseline zu 24 Stunden | n. z. | -1,9  | 0,057   |
|  | Baseline zu 48 Stunden | n. z. | -1,82 | 0,07    |
|  | Baseline zu 72 Stunden | n. z. | -2,43 | 0,015   |

\*=statistisch signifikant

**Tabelle 6: Vergleich der INTEM CT zwischen und innerhalb der Gruppen**

### 3.3.3 Korrelationen der aPTT, INTEM CT und deren *ratios* mit den Plasmaspiegeln von Argatroban

Die Korrelationen sind in Abb. 11 dargestellt. Zwischen der aPTT und dem Argatroban-Plasmaspiegel zeigte sich keine Korrelation ( $r_s=0,214$ ;  $p=0,117$ ;  $n=55$ , Abb. 11 a)). Auffällig waren zwei aPTT-Messungen mit 99 und 103 Sekunden bei Plasmaspiegeln von 0,11  $\mu\text{g/ml}$ , jeweils bei Patienten mit einer Leberinsuffizienz. Bleiben diese beiden Messwerte unberücksichtigt, zeigt sich eine schwache signifikante Korrelation der aPTT mit dem Argatroban-Plasmaspiegel ( $r_s=0,33$ ;  $p=0,017$ ;  $n=53$ ; ein  $p<0,05$  galt als statistisch signifikant). Die INTEM CT korrelierte signifikant mit dem Argatroban-Plasmaspiegel ( $r_s=0,535$ ;  $p<0,001$ ;  $n=52$ , Abb. 11b)). Die Analyse der aPTT *ratios* mit dem Argatroban-Plasmaspiegel zeigte keine signifikante Korrelation ( $r_s=0,18$ ;  $p=0,21$ ;  $n=50$ , Abb. 11 c)). Die Korrelationen zwischen den INTEM CT *ratios* und dem Argatroban-Plasmaspiegel war positiv und statistisch signifikant ( $r_s=0,59$ ;  $p<0,001$ ;  $n=52$ , Abb. 11 d)).

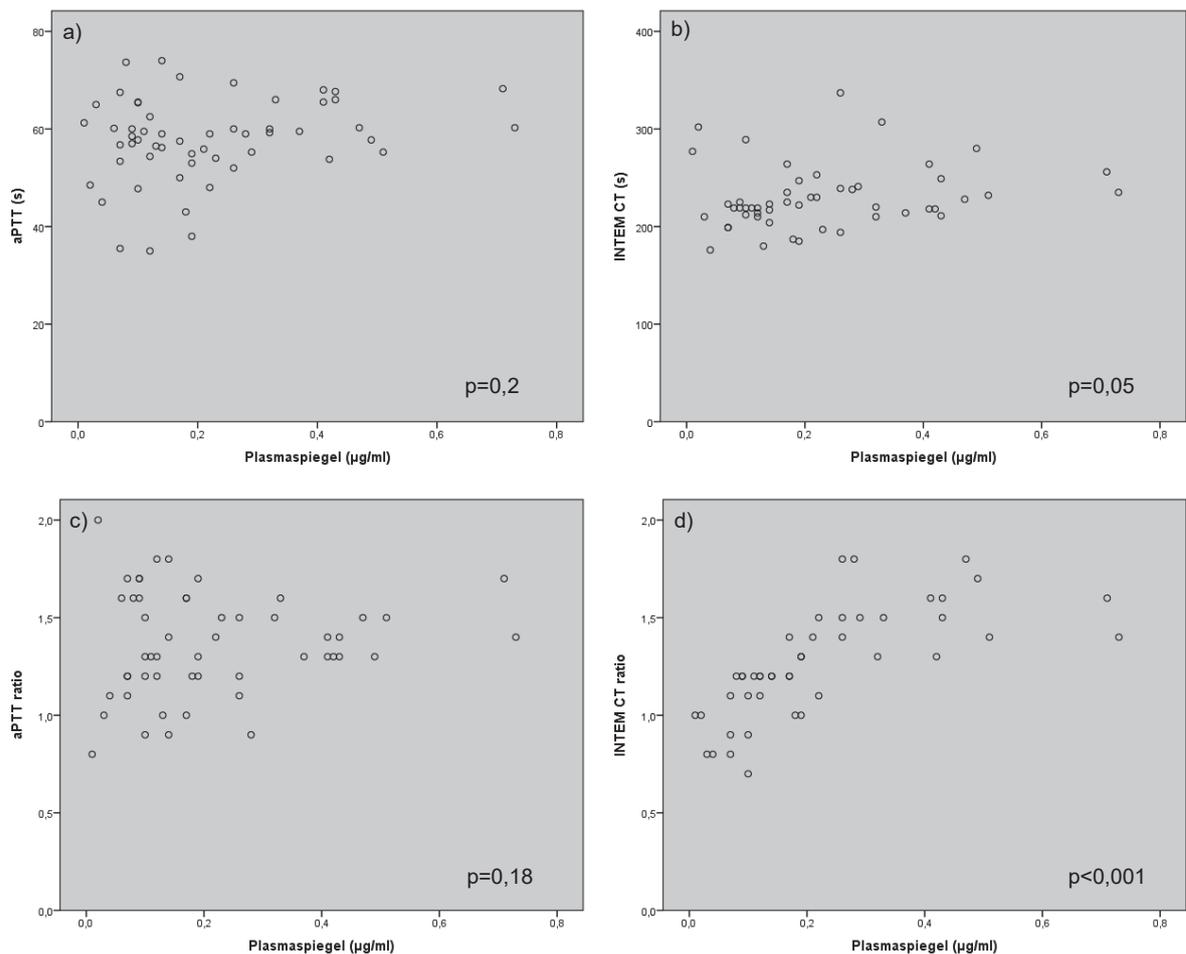


**Abb.11: Korrelationen intrinsischer Gerinnungsparameter mit dem Argatroban-Plasmaspiegel**

aPTT: aktivierte Thromboplastinzeit, s: Sekunde,  $\mu\text{g}$ : Mikrogramm, ml: Milliliter, *ratio*: Quotient eines Messwertes mit dem zugehörigen Baseline-Wert

### 3.3.4 Korrelationen der aPTT, INTEM CT und deren *ratios* mit den Plasmaspiegeln von Lepirudin

Die Korrelationen sind in Abb. 12 dargestellt. Zwischen der aPTT und dem Lepirudin-Plasmaspiegel wurde keine signifikante Korrelation festgestellt ( $r_s=0,18$ ;  $p=0,2$ ;  $n=55$ , Abb. 12 a)). Die INTEM CT korrelierte nicht mit dem Lepirudin-Plasmaspiegel ( $r_s=0,27$ ;  $p=0,05$ ;  $n=51$ , Abb. 11 b)). Die Analyse der aPTT *ratios* mit dem Plasmaspiegel ergab für die Lepirudin-Gruppe keine signifikante Korrelation ( $r_s=0,2$ ;  $p=0,18$ ;  $n=48$ , Abb. 11 c)). Die INTEM CT *ratios* hingegen zeigten eine positive und signifikante Korrelation ( $r_s=0,83$ ;  $p<0,001$ ;  $n=45$ , Abb. 11 d)).



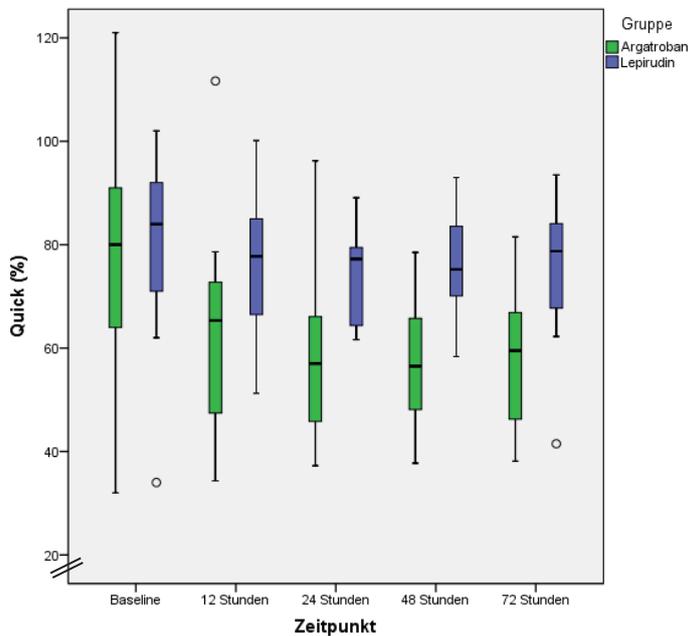
**Abb.12: Korrelationen intrinsischer Gerinnungsparameter mit dem Lepirudin-Plasmaspiegel**

aPTT: aktivierte Thromboplastinzeit, s: Sekunde, µg: Mikrogramm, ml: Milliliter, *ratio*: Quotient eines Messwertes mit dem zugehörigen Baseline-Wert

### 3.4 Extrinsisches Gerinnungssystem

#### 3.4.1 Verlauf des Quick-Wertes

Vor Beginn der Behandlung waren die Quick-Werte zwischen der Argatroban- und Lepirudin-Gruppe vergleichbar. Nach dem Start der Studienmedikation unterschieden sich die Werte zwischen den Gruppen zu jedem Zeitpunkt signifikant voneinander, da sich nur in der Argatroban-Gruppe ein signifikanter Abfall des Quick-Wertes nach 12 bis 48 Stunden im Vergleich zum Ausgangswert zeigte (Abb. 13, Tabelle 7).



**Abb. 13: Vergleich der Quick-Werte für die Argatroban- und Lepirudin-Gruppe**

Median und Quartile sowie 1,5xIQR, °=Ausreißer, zu den Zeitpunkten Baseline und 12, 24, 48 und 72 Stunden nach Start der Studienmedikation

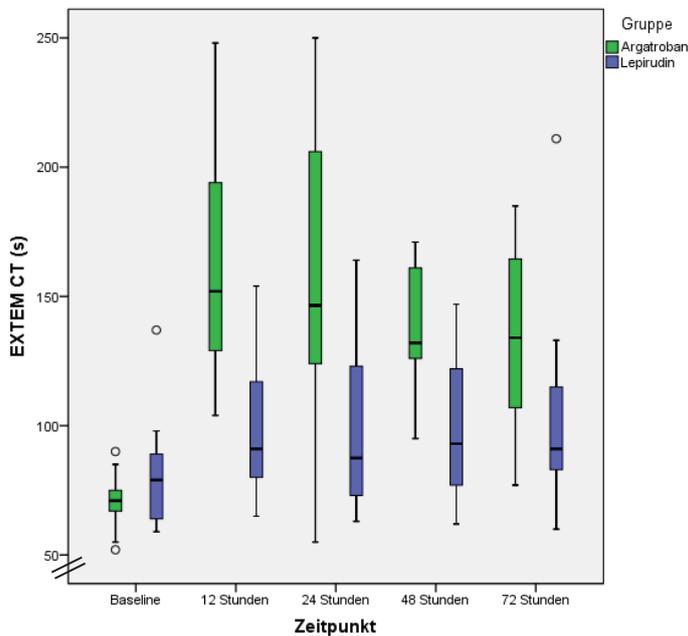
|  |       | Zeitpunkt  | U     | z                      | p       |
|--|-------|--|-------|------------------------|---------|
| <b>Vergleich zwischen der Argatroban- und Lepirudin-Gruppe</b> |       | Baseline   | 146   | -0,23                  | 0,83    |
|  |       | 12 Stunden                                       | 71    | -2,71                  | 0,006*  |
|  |       | 24 Stunden                                       | 51    | -3,22                  | <0,001* |
|  |       | 48 Stunden                                       | 31    | -3,2                   | <0,001* |
|  |       | 72 Stunden                                       | 27    | -3,2                   | <0,001* |
|  |       | <b>Vergleich innerhalb der Argatroban-Gruppe</b> |       | Baseline zu 12 Stunden | n. z.   |
| Baseline zu 24 Stunden   | n. z. |  |       | -3,15                  | 0,002*  |
| Baseline zu 48 Stunden   | n. z. |  |       | -2,76                  | 0,006*  |
| Baseline zu 72 Stunden   | n. z. |  |       | -2,2                   | 0,028   |
| <b>Vergleich innerhalb der Lepirudin-Gruppe</b>                |       |  |       | Baseline zu 12 Stunden | n. z.   |
|  |       | Baseline zu 24 Stunden                           | n. z. | -2,11                  | 0,04    |
|  |       | Baseline zu 48 Stunden                           | n. z. | -2,22                  | 0,03    |
|  |       | Baseline zu 72 Stunden                           | n. z. | -1,81                  | 0,07    |

\*=statistisch signifikant

**Tabelle 7: Vergleich des Quick-Wertes zwischen und innerhalb der Gruppen**

### 3.4.2 Dauer bis zum Start der Gerinnselbildung: EXTEM CT

Die EXTEM CT-Werte der beiden Gruppen waren vor Beginn der Studienmedikation vergleichbar. Ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen wurde zu allen Zeitpunkten gemessen, wenn zum Zeitpunkt 72 Stunden der Ausreißer unberücksichtigt bleibt. Die hier gezeigte Abbildung bildet den Datenpunkt ab. Wird er in der Analyse nicht berücksichtigt ergibt sich ein  $p=0,004$ . Für alle anderen Werte siehe Abb. 14 und Tabelle 8. Nach Beginn der Studienmedikation kam es in beiden Gruppen zu einer Verlängerung der EXTEM CT, die nur in der Argatroban-Gruppe zu allen Zeitpunkten signifikant war.



**Abb. 14: Vergleich der EXTEM CT für die Argatroban- und Lepirudin-Gruppe**

Median und Quartile sowie 1,5xIQR, °=Ausreißer, zu den Zeitpunkten Baseline und 12, 24, 48 und 72 Stunden nach Start der Studienmedikation, s: Sekunde

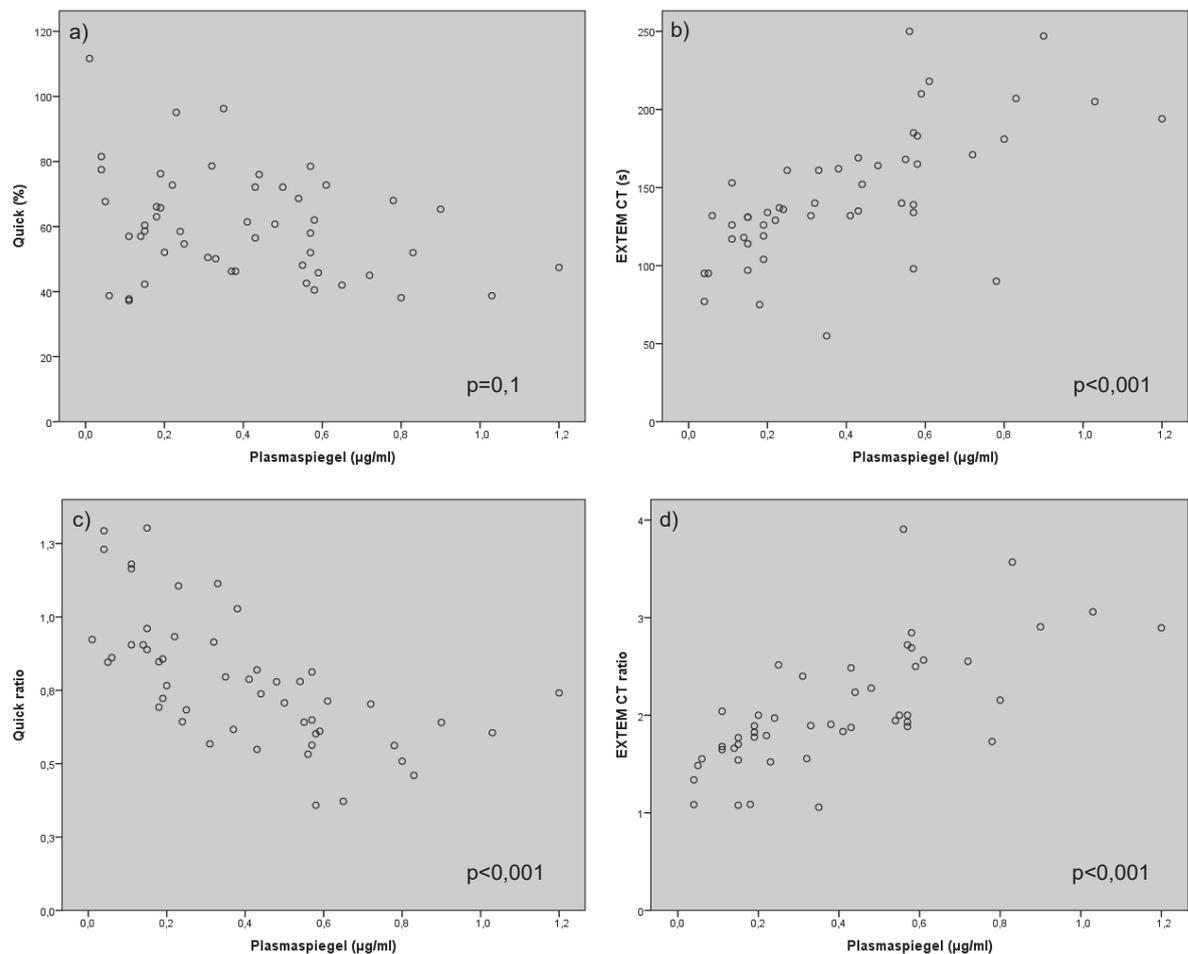
|  | Zeitpunkt              | U     | z     | p       |
|--|------------------------|-------|-------|---------|
| <b>Vergleich zwischen der Argatroban- und Lepirudin-Gruppe</b> | Baseline               | 116,5 | -1,21 | 0,23    |
|  | 12 Stunden             | 20,5  | -3,77 | <0,001* |
|  | 24 Stunden             | 55    | -3,07 | 0,002*  |
|  | 48 Stunden             | 30,50 | -3,23 | 0,001*  |
|  | 72 Stunden             | 34,5  | -2,33 | 0,018   |
| <b>Vergleich innerhalb der Argatroban-Gruppe</b>               | Baseline zu 12 Stunden | n. z. | -3,18 | 0,001*  |
|  | Baseline zu 24 Stunden | n. z. | -3,52 | <0,001* |
|  | Baseline zu 48 Stunden | n. z. | -3,18 | 0,001*  |
|  | Baseline zu 72 Stunden | n. z. | -2,94 | 0,003*  |
| <b>Vergleich innerhalb der Lepirudin-Gruppe</b>                | Baseline zu 12 Stunden | n. z. | -2,61 | 0,009*  |
|  | Baseline zu 24 Stunden | n. z. | -2,11 | 0,035   |
|  | Baseline zu 48 Stunden | n. z. | -2,15 | 0,032   |
|  | Baseline zu 72 Stunden | n. z. | -2,64 | 0,008*  |

\*=statistisch signifikant

**Tabelle 8: Vergleich der EXTEM CT zwischen und innerhalb der Gruppen**

### 3.4.3 Korrelationen des Quick, der EXTEM CT und deren *ratios* mit den Plasmaspiegeln von Argatroban

Die Korrelationen sind in Abb. 15 dargestellt. Während sich zwischen dem Quick-Wert und dem Argatroban-Plasmaspiegel keine Korrelation zeigte ( $r_s=-0,23$ ;  $p=0,1$ ;  $n=51$ , Abb. 15 a)), korrelierte die Quick *ratio* negativ mit dem Plasmaspiegel von Argatroban ( $r_s=-0,74$ ;  $p<0,001$ ;  $n=51$ , Abb. 15 c)). Zwischen der EXTEM CT und dem Argatroban-Plasmaspiegel fand sich eine signifikante Korrelation ( $r_s=0,71$ ;  $p<0,001$ ;  $n=49$ , Abb. 15 b)). In der Argatroban-Gruppe zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen der EXTEM CT *ratio* und dem Plasmaspiegel ( $r_s=0,76$ ;  $p<0,001$ ;  $n=49$ , Abb. 15d)).

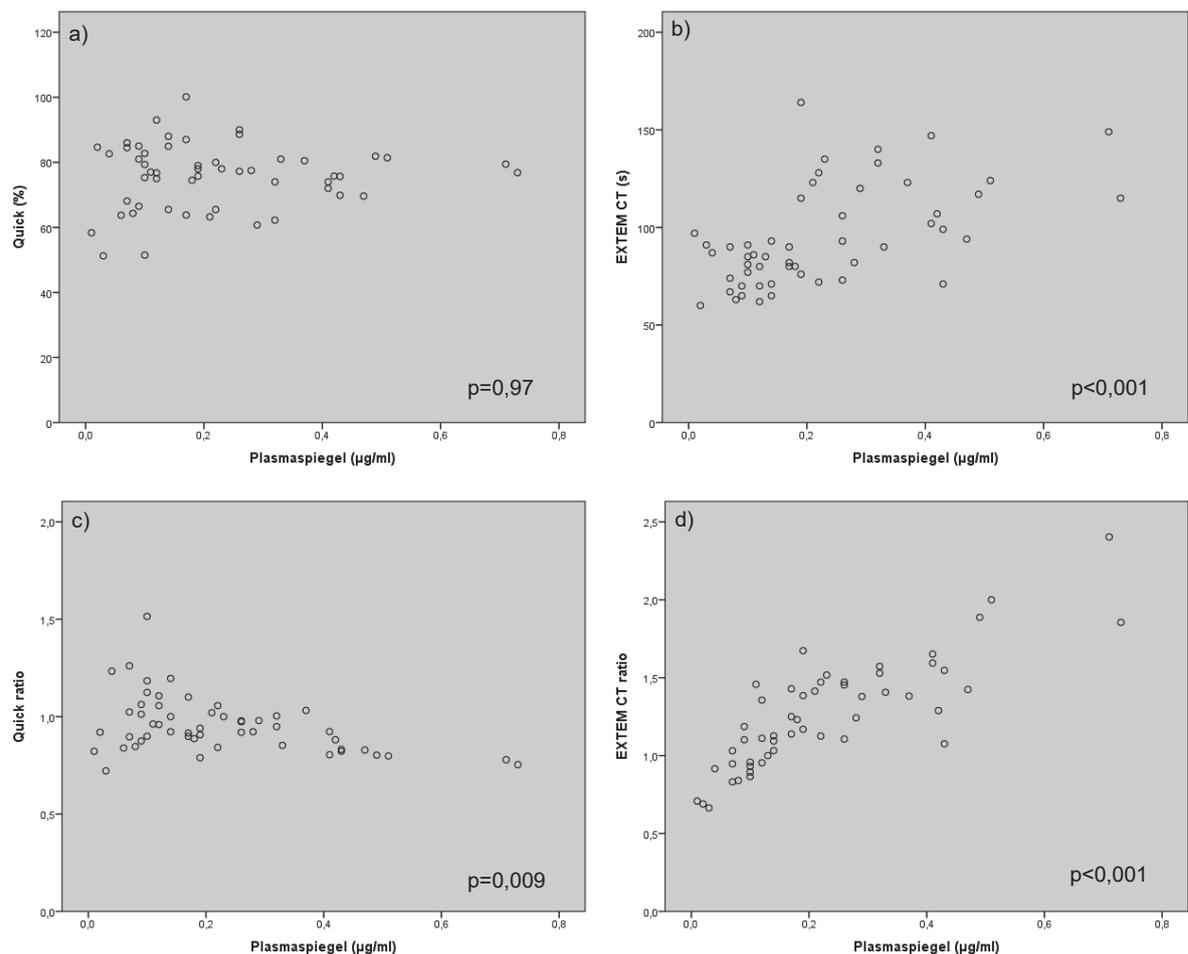


**Abb. 15: Korrelation extrinsischer Gerinnungsparameter mit dem Argatroban-Plasmaspiegel**

s: Sekunde, µg: Mikrogramm, ml: Milliliter, *ratio*: Quotient eines Messwertes mit dem zugehörigen Baseline-Wert

### 3.4.4 Korrelationen des Quick, der EXTEM CT und deren *ratios* mit den Plasmaspiegeln von Lepirudin

Die Korrelationen sind in Abb. 16 dargestellt. In der Lepirudin-Gruppe fand sich keine Korrelation zwischen dem Quick-Wert und dem Plasmaspiegel ( $r_s=0,05$ ;  $p=0,97$ ;  $n=55$ , Abb. 16 a)). Die Quick *ratio* korrelierte schwach und negativ mit dem Plasmaspiegel von Lepirudin ( $r_s=-0,36$ ;  $p=0,009$ ;  $n=53$ , Abb. 16 c)). Die EXTEM CT und der Lepirudin-Plasmaspiegel korrelierten signifikant mit einer mittleren Korrelationsstärke ( $r_s=0,59$ ;  $p<0,001$ ;  $n=52$ , Abb. 16 b)). In der Lepirudin-Gruppe zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen der EXTEM CT *ratio* und dem Plasmaspiegel ( $r_s=0,82$ ;  $p<0,001$ ;  $n=52$ , Abb. 16 d)).



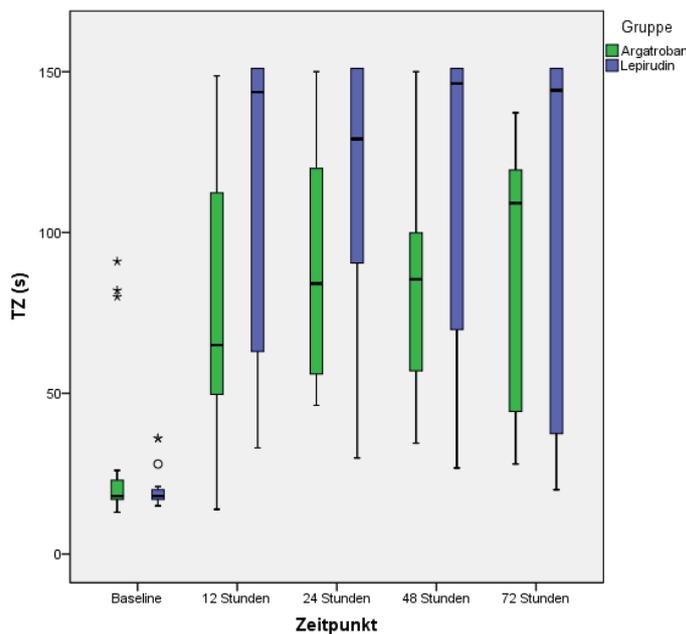
**Abb. 16: Korrelation extrinsischer Gerinnungsparameter mit dem Lepirudin-Plasmaspiegel**

s: Sekunde, µg: Mikrogramm, ml: Milliliter, *ratio*: Quotient eines Messwertes mit dem zugehörigen Baseline-Wert

### 3.5 Gemeinsame Endstrecke der Gerinnung

#### 3.5.1 Verlauf der Thrombinzeit

Die TZ-Werte unterschieden sich vor Beginn der Studienmedikation nicht signifikant zwischen beiden Gruppen (siehe Abb. 17 und Tabelle 9). In beiden Gruppen stieg die TZ während der Therapie signifikant an. Während der Behandlung mit der Studienmedikation wurde kein signifikanter Unterschied der TZ-Werte zwischen den Gruppen festgestellt. Das obere Limit der Messwerte von 150 Sekunden wurde in der Argatroban-Gruppe zwei Mal, in der Lepirudin-Gruppe 30 Mal erreicht.



**Abb. 17: Vergleich der Thrombinzeit zwischen Argatroban- und Lepirudin-Patienten**

Median und Quartile sowie 1,5xIQR, °=Ausreißer, \*=Extremwerte zu den Zeitpunkten Baseline und 12, 24, 48 und 72 Stunden nach Start der Studienmedikation, s: Sekunde

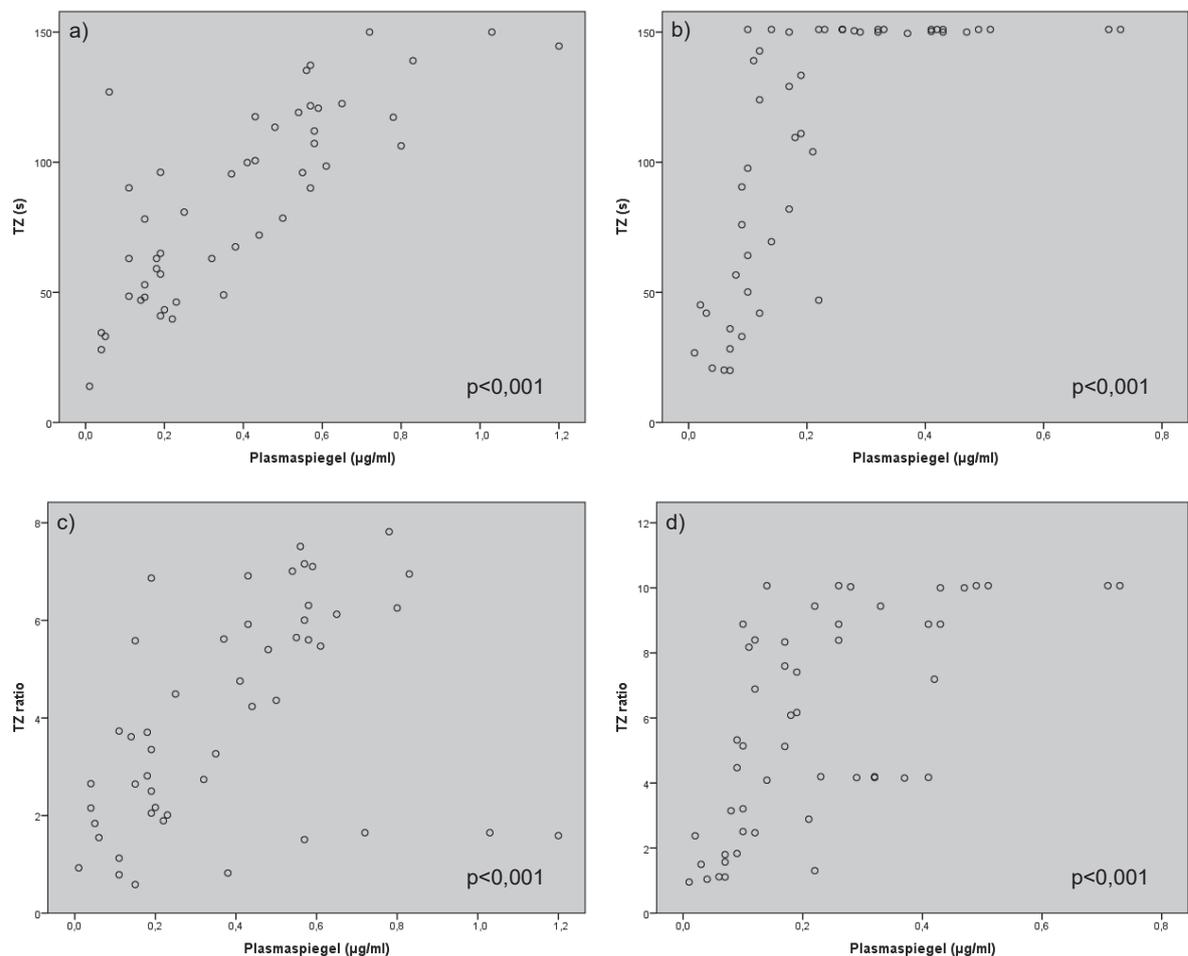
|  | Zeitpunkt              | U     | z     | p       |
|--|------------------------|-------|-------|---------|
| Vergleich zwischen<br>der Argatroban- und Lepirudin-Gruppe | Baseline               | 135   | -0,6  | 0,57    |
|  | 12 Stunden             | 69,5  | -2,0  | 0,045   |
|  | 24 Stunden             | 78    | -2,1  | 0,037   |
|  | 48 Stunden             | 62    | -2,08 | 0,038   |
|  | 72 Stunden             | 72    | -1,12 | 0,28    |
| Vergleich innerhalb der Argatroban-Gruppe                  | Baseline zu 12 Stunden | n. z. | -3,35 | <0,001* |
|  | Baseline zu 24 Stunden | n. z. | -3,41 | <0,001* |
|  | Baseline zu 48 Stunden | n. z. | -2,98 | <0,003* |
|  | Baseline zu 72 Stunden | n. z. | -2,75 | 0,006*  |
| Vergleich innerhalb der Lepirudin-Gruppe                   | Baseline zu 12 Stunden | n. z. | -3,18 | 0,001*  |
|  | Baseline zu 24 Stunden | n. z. | -3,30 | <0,001* |
|  | Baseline zu 48 Stunden | n. z. | -3,18 | 0,001*  |
|  | Baseline zu 72 Stunden | n. z. | -3,18 | 0,001*  |

\*=statistisch signifikant

**Tabelle 9: Vergleich der TZ zwischen und innerhalb der Gruppen**

### 3.5.2 Korrelationen der TZ mit den Plasmaspiegeln von Argatroban und Lepirudin

Die Korrelationen sind in Abb. 18 dargestellt. Der Argatroban-Plasmaspiegel korrelierte signifikant mit der Thrombinzeit ( $r_s=0,783$ ;  $p<0,001$ ;  $n=49$ , Abb. 18 a)). Die TZ *ratio* korrelierte weniger stark mit dem Argatroban-Plasmaspiegel ( $r_s=0,50$ ;  $p<0,001$ ;  $n=49$ , Abb. 18 c)). Auffällig waren fünf Ausreißer mit Plasmaspiegeln von 0,39 bis 1,2  $\mu\text{g}/\text{ml}$  und einer *ratio* kleiner 2 (ohne diese gilt  $r_s=0,798$ ;  $p<0,001$ ;  $n=44$ ). Die zugehörigen Baseline-Werte dieser fünf Ausreißer lagen alle mit  $>80$  Sekunden deutlich über der Norm. Der Lepirudin-Plasmaspiegel korrelierte ebenfalls signifikant mit der Thrombinzeit ( $r_s=0,811$ ;  $p<0,001$ ;  $n=51$ , Abb. 18 b)). Auffällig war eine Verlängerung der TZ von  $\geq 150$  Sekunden für 24 Werte. Die TZ *ratio* korrelierte weniger stark mit dem Lepirudin-Plasmaspiegel ( $r_s=0,697$ ;  $p<0,001$ ;  $n=51$ , Abb. 18 d)).



**Abb.18: Korrelation der Thrombinzeit mit den Plasmaspiegeln**

Argatroban-Plasmaspiegel links, Lepirudin-Plasmaspiegel rechts, s: Sekunde,  $\mu\text{g}$ : Mikrogramm, ml: Milliliter, *ratio*: Quotient eines Messwertes mit dem zugehörigen Baseline-Wert

### 3.6 Synopsis der Korrelationen

In Tabelle 10 sind die Korrelationen zusammengefasst.

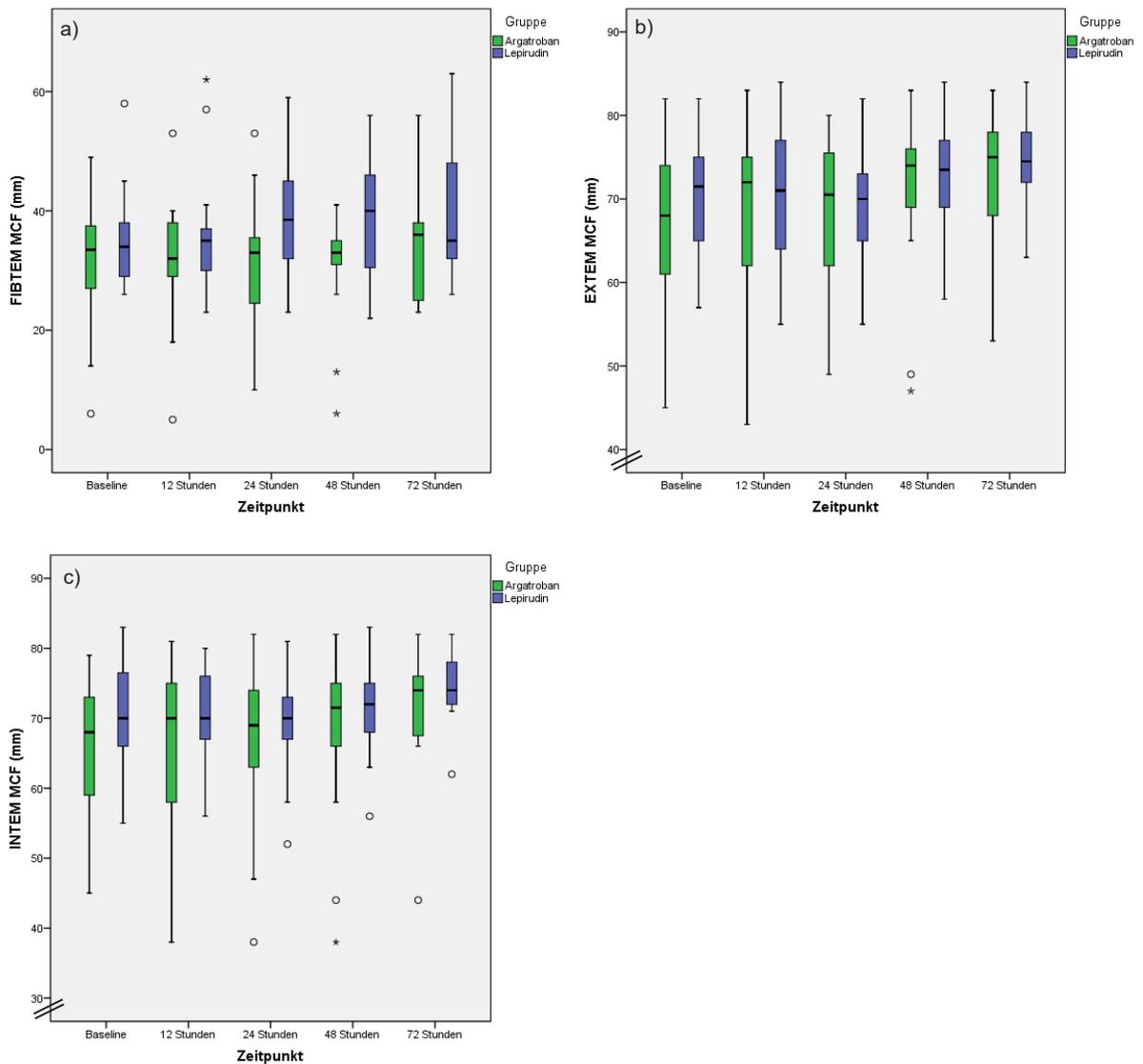
|                 | Plasmaspiegel von |           | Plasmaspiegel von |           |
|-----------------|-------------------|-----------|-------------------|-----------|
|                 | Argatroban        | Lepirudin | Argatroban        | Lepirudin |
| <b>aPTT</b>     |                   |           |                   |           |
| $r_s$           | 0,21              | 0,18      | 0,18              | 0,08      |
| <b>p</b>        | 0,12              | 0,2       | 0,21              | 0,56      |
| <hr/>           |                   |           |                   |           |
| <b>INTEM CT</b> |                   |           |                   |           |
| $r_s$           | 0,54              | 0,27      | 0,59              | 0,83      |
| <b>p</b>        | <0,001*           | 0,05      | <0,001*           | <0,001*   |
| <hr/>           |                   |           |                   |           |
| <b>TZ</b>       |                   |           |                   |           |
| $r_s$           | 0,78              | 0,81      | 0,50              | 0,70      |
| <b>p</b>        | <0,001*           | <0,001*   | <0,001*           | <0,001*   |
| <hr/>           |                   |           |                   |           |
| <b>EXTEM CT</b> |                   |           |                   |           |
| $r_s$           | 0,71              | 0,59      | 0,76              | 0,82      |
| <b>p</b>        | <0,001*           | <0,001*   | <0,001*           | <0,001*   |
| <hr/>           |                   |           |                   |           |
| <b>Quick</b>    |                   |           |                   |           |
| $r_s$           | -0,23             | 0,05      | -0,74             | -0,36     |
| <b>p</b>        | 0,1               | 0,97      | <0,001*           | 0,009*    |

**Tabelle 10: Übersicht der Korrelationen**

aPTT: aktivierte partielle Thromboplastinzeit, TZ: Thrombinzeit, *ratio*: Quotient eines Messwertes mit dem zugehörigen Baseline-Wert,  $r_s$ : Spearman rho, \*=statistisch signifikant

### 3.7 Analyse der maximalen Gerinnselfestigkeit MCF

Die maximale Gerinnselfestigkeit in den drei Testansätzen INTEM, EXTEM und FIBTEM unterschied sich zwischen den beiden Studiengruppen weder vor noch nach Beginn der Behandlung. Auch innerhalb der Gruppen fanden sich keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zum Zeitpunkt Baseline (siehe Abb. 19 a) bis c) und Tabelle 11).



**Abb. 19: Vergleich der FIBTEM, EXTEM und INTEM MCF zwischen der Argatroban- und Lepirudin-Gruppe**

Mediane und Quartile sowie 1,5xIQR, °=Ausreißer, \*=Extremwerte zu den Zeitpunkten Baseline, 12, 24, 48 und 72 Stunden nach Start der Studienmedikation, mm: Millimeter

a) FIBTEM MCF

|  | Zeitpunkt              | U     | z      | p     |
|--|------------------------|-------|--------|-------|
| Vergleich zwischen<br>der Argatroban- und Lepirudin-Gruppe | Baseline               | 135   | -0,31  | 0,77  |
|  | 12 Stunden             | 87,5  | -0,96  | 0,34  |
|  | 24 Stunden             | 80,5  | -1,97  | 0,05  |
|  | 48 Stunden             | 61,5  | -1,87  | 0,06  |
|  | 72 Stunden             | 44,5  | -0,94  | 0,36  |
| Vergleich innerhalb der Argatroban-Gruppe                  | Baseline zu 12 Stunden | n. z. | -2,16  | 0,03  |
|  | Baseline zu 24 Stunden | n. z. | -0,04  | 0,97  |
|  | Baseline zu 48 Stunden | n. z. | <-0,01 | >0,99 |
|  | Baseline zu 72 Stunden | n. z. | -0,24  | 0,81  |
| Vergleich innerhalb der Lepirudin-Gruppe                   | Baseline zu 12 Stunden | n. z. | -0,41  | 0,68  |
|  | Baseline zu 24 Stunden | n. z. | -2,49  | 0,013 |
|  | Baseline zu 48 Stunden | n. z. | -1,32  | 0,19  |
|  | Baseline zu 72 Stunden | n. z. | -0,84  | 0,4   |

b) EXTEM MCF

|   | Zeitpunkt              | U     | z     | p    |
|---|------------------------|-------|-------|------|
| Vergleich zwischen der Argatroban- und Lepirudin-Gruppe | Baseline               | 123   | -0,99 | 0,34 |
|   | 12 Stunden             | 99,5  | -0,46 | 0,65 |
|   | 24 Stunden             | 137,5 | -0,23 | 0,83 |
|   | 48 Stunden             | 96,5  | -0,33 | 0,75 |
|   | 72 Stunden             | 73,5  | -0,19 | 0,85 |
| Vergleich innerhalb der Argatroban-Gruppe               | Baseline zu 12 Stunden | n. z. | -1,27 | 0,2  |
|   | Baseline zu 24 Stunden | n. z. | -1,51 | 0,13 |
|   | Baseline zu 48 Stunden | n. z. | -2,27 | 0,23 |
|   | Baseline zu 72 Stunden | n. z. | -1,74 | 0,08 |
| Vergleich innerhalb der Lepirudin-Gruppe                | Baseline zu 12 Stunden | n. z. | -0,1  | 0,92 |
|   | Baseline zu 24 Stunden | n. z. | -0,86 | 0,39 |
|   | Baseline zu 48 Stunden | n. z. | -1,29 | 0,2  |
|   | Baseline zu 72 Stunden | n. z. | -1,68 | 0,09 |

c) INTEM MCF

|  | Zeitpunkt              | U     | z     | p     |
|--|------------------------|-------|-------|-------|
| Vergleich zwischen<br>der Argatroban- und Lepirudin-Gruppe | Baseline               | 98    | -1,37 | 0,18  |
|  | 12 Stunden             | 101   | -0,72 | 0,49  |
|  | 24 Stunden             | 134,5 | -0,35 | 0,73  |
|  | 48 Stunden             | 101   | -0,46 | 0,67  |
|  | 72 Stunden             | 61    | -0,61 | 0,57  |
| Vergleich innerhalb der Argatroban-Gruppe                  | Baseline zu 12 Stunden | n. z. | -0,04 | 0,97  |
|  | Baseline zu 24 Stunden | n. z. | -1,74 | 0,08  |
|  | Baseline zu 48 Stunden | n. z. | -1,93 | 0,054 |
|  | Baseline zu 72 Stunden | n. z. | -1,43 | 0,15  |
| Vergleich innerhalb der Lepirudin-Gruppe                   | Baseline zu 12 Stunden | n. z. | -1,35 | 0,18  |
|  | Baseline zu 24 Stunden | n. z. | -0,46 | 0,65  |
|  | Baseline zu 48 Stunden | n. z. | -0,48 | 0,63  |
|  | Baseline zu 72 Stunden | n. z. | -0,76 | 0,45  |

Tabelle 11: Vergleiche der MCF zwischen und innerhalb der Gruppen

## 4 Diskussion

### 4.1 Ergebniszusammenfassung

Dies ist, nach unserem Kenntnisstand, die erste *in vivo* Untersuchung, die anhand von Blutproben kritisch kranker Patientinnen und Patienten unter Therapie mit Argatroban oder Lepirudin konventionelle Gerinnungsparameter mit den Ergebnissen der ROTEM® und den Plasmaspiegeln der Substanzen vergleicht.

Nach Start der Behandlung wurden in beiden Therapiegruppen vergleichbare aPTT-Werte erzielt, die gegenüber der Baseline signifikant erhöht waren. Die Plasmaspiegel beider Thrombininhibitoren stiegen deutlich an, wobei mit Argatroban circa doppelt so hohe Plasmakonzentrationen erzielt wurden als mit Lepirudin. Die TZ-Werte stiegen mit Argatroban und Lepirudin ebenfalls deutlich an, erreichten aber unter Lepirudin häufiger das Limit der Messdauer von 150 Sekunden. Der Quick-Wert sank nur bei Patientinnen und Patienten signifikant, die mit Argatroban behandelt wurden. Bei diesen waren auch die INTEM CT und die EXTEM CT zu allen Zeitpunkten signifikant verlängert. Unter der Behandlung mit Lepirudin veränderte sich der Quick-Wert nicht und auch die INTEM CT und die EXTEM CT waren im Vergleich zur Baseline nicht zu allen Messzeitpunkten signifikant verändert.

Relevante Korrelationen zeigten sich zwischen dem Argatroban-Plasmaspiegel und der INTEM CT, der INTEM CT *ratio*, der TZ, der TZ *ratio*, der EXTEM CT, der EXTEM CT *ratio* und der Quick *ratio*. Der Lepirudin-Plasmaspiegel korrelierte signifikant mit der INTEM CT *ratio*, der TZ, der TZ *ratio*, der EXTEM CT und der EXTEM CT *ratio* sowie der Quick *ratio*.

Unter der Therapie mit beiden DTIs kam es nicht zu einer Abnahme der Gerinnselfestigkeit.

### 4.2 Einfluss von Argatroban und Lepirudin auf das Gerinnungssystem

#### 4.2.1 Einfluss auf das intrinsische Gerinnungssystem

Für die Steuerung der Dosierung von Argatroban und Lepirudin wird in der Fachinformation die aPTT empfohlen und im klinischen Alltag auch üblicherweise eingesetzt (39, 40, 59). Die Ergebnisse der Literaturrecherche und der vorliegenden Arbeit lassen Zweifel daran aufkommen, dass die aPTT für das Monitoring einer DTI-

Therapie ideal geeignet ist. Verschiedene Faktoren tragen zu diesem Zweifel bei: a) Die aPTT weist mit steigender DTI-Dosierung einen Ceiling-Effekt auf und unterscheidet sich trotz gleicher DTI-Konzentrationen je nach aPTT-Messreagenz zum Teil signifikant voneinander (65, 66, 67, 94). b) Bei *in vitro* Messungen wurde bei gesunden Probanden eine gute Linearität zwischen Argatroban-Konzentrationen und der aPTT gezeigt. *In vivo* war die Vorhersagekraft des Argatroban-Plasmaspiegels bei kardiochirurgischen Intensivpatienten durch die aPTT sehr gering (95). Auch das Bilden von aPTT *ratios*, also die Berücksichtigung des Baseline-Werts, führte nicht zu einer verlässlichen Vorhersage des Argatroban-Plasmaspiegels (96, 97). c) Die aPTT kann bei Intensivpatienten mit Lebersynthesestörungen verlängert sein. Bei Patientinnen und Patienten mit einer Lebersynthesestörung war die Argatroban-Konzentration nach Verdopplung der aPTT mit 0,38 bis 1,62 µg/ml abhängig vom aPTT-Reagenz deutlich unterschiedlich (69). Die Anzahl der untersuchten Patientinnen und Patienten mit einer Lebersynthesestörung war mit fünf aber eher gering. *In vivo* unterschied sich die aPTT zwischen gesunden Probanden und Probanden mit einer Leberfunktionsstörung gemäß Child-Pugh-Score 7 bis 11 bei gleichen Argatroban-Konzentrationen um das 1,5-fache (45). d) Weitere Faktoren, die zu einer erhöhten Baseline-aPTT führen können, sind disseminierte intravasale Gerinnung, Lupusantikoagulanz oder Gerinnungsfaktorenmängel. Dies kann zu dem falschen Rückschluss führen, dass eine zu starke Antikoagulation vorliegt, da die aPTT-Werte in diesen Fällen durch die beschriebenen Pathologien, nicht aber durch eine medikamentöse Antikoagulation, deutlich verlängert sein können. Folglich ist eine Unterdosierung eines direkten Thrombininhibitors möglich und auch mit möglichen fatalen Folgen schon beschrieben worden (68, 73, 98): Ein 36 jähriger Patient mit Z.n. Aortenklappenersatz entwickelte unter Therapie mit unfraktioniertem Heparin eine tiefe Beinvenenthrombose mit Lungenembolie, welche eine operative Embolektomie zur Folge hatte. Eine HIT wurde erst vermutet, später auch nachgewiesen. Argatroban wurde gestartet, aber mehrmals in der Dosierung reduziert und auch pausiert, da supratherapeutische aPTT-Werte vorlagen. Eine extrakorporale Membranoxygenierung wurde notwendig, die Thrombose war weiter fortschreitend und der Patient verstarb am 15. postoperativen Tag aufgrund eines Kreislaufversagens bedingt durch einen großen Thrombus im rechten Vorhof. Eine disseminierte intravasale Gerinnung, akute Leberschädigung und Therapie mit der extrakorporalen Membranoxygenierung waren nach Ansicht der Autoren die Gründe für die falsch erhöhte aPTT und der daraus resultierenden Argatrobanunterdosierung (73). Ein anderer Patient entwickelte am 6. postoperativen Tag nach Versorgung einer Hüftfraktur eine HIT mit beidseitiger tiefer Beinvenenthrombose und beidseitigen Nebenniereninfarkten. Die aPTT-Werte waren vor Argatroban-Gabe mit Werten von 38 bis 41 Sekunden (Norm 22 bis 35 Sekunden) leicht

verlängert. Die Autoren gehen am ehesten von einer HIT-assoziierten disseminierten intravasalen Gerinnung aus. Die aPTT verlängerte sich nach Start der Argatrobantherapie auf über 100 Sekunden. Die Argatroban-Dosierung wurde mehrmals reduziert und auch unterbrochen. Der Patient verstarb an einer Hirnischämie. Die Autoren halten einen Zusammenhang zwischen einer Argatroban-Unterdosierung und dem fatalen Ausgang für möglich (98).

In unserer Studie kam es nach Start der Studienmedikation sowohl unter Argatroban als auch unter Lepirudin zu einem signifikanten und zwischen den Substanzen vergleichbaren Anstieg der aPTT. Allerdings korrelierten diese aPTT-Werte nicht, bzw. nur schwach, mit den Plasmaspiegeln der jeweiligen Substanz.

Engström et al. untersuchten mittels ROTEM® Blut von gesunden Probanden, das mit Argatroban-Konzentrationen von 0,125 bis 8 µg/ml versetzt wurde. Sie konnten zeigen, dass die Argatroban-Konzentration unter anderem mit den ROTEM®-Parametern INTEM CT und mit der aPTT signifikant und sehr stark korreliert, und schlussfolgerten, dass die ROTEM® zum Monitoring einer Argatroban-Therapie geeignet sein könnte (75). Im Plasma der kritisch kranken Patientinnen und Patienten in unserer Studie stieg der Argatroban-Plasmaspiegel im Mittel nur auf 0,35 µg/ml (Q25: 0,18; Q75: 0,57; Min.: 0,01; Max.: 1,2 µg/ml). Möglicherweise reagiert die aPTT in diesem niedrigen Dosisbereich nicht sensitiv genug. Es ist auch möglich, dass die aPTT bei unserem Patientenkollektiv durch Störfaktoren vor Studienstart bereits beeinflusst war (68). Vor Start der Studienmedikation war die aPTT in unserer Studie mit  $\geq 40$  Sekunden bei 15 von 17 Patienten in der Argatroban-Gruppe verlängert. Dies könnte erklären, warum die aPTT in unserer Studie nicht mit dem Argatroban-Plasmaspiegel korrelierte. Es ist auch nicht auszuschließen, dass Heparin noch einen Einfluss vor Gabe der Studienmedikation gehabt hat.

Im Unterschied dazu korrelierte die INTEM CT auch in unserer Studie mit dem Argatroban-Plasmaspiegel. Eine stärkere Korrelation zwischen der INTEM CT und dem Argatroban-Plasmaspiegel ergab sich, wenn die INTEM CT *ratio* verwendet wurde.

Interessant ist, dass anderen Autoren zufolge die INTEM CT bei niedrigen Argatroban-Dosierungen nicht sensitiv genug sei. Diese Autoren haben deshalb einen mit Ecarin modifizierten Ansatz verwendet. Dieser Ansatz ist mit dem Ecarin-Zeittest vergleichbar. Ecarin aktiviert Prothrombin zu Meizothrombin. Meizothrombin führt zur Spaltung von Fibrinogen zu Fibrin. Direkte Thrombininhibitoren hemmen diese Wirkung konzentrationsabhängig und verlängern so die *clotting time*. In diesem Ansatz korrelierte die modifizierte INTEM CT *in vitro* gut mit Argatroban-Konzentrationen bis 2 µg/ml (99). Für die ROTEM® gibt es ein kommerziell erwerbbares Fertig-Reagenz mit Ecarin, die sogenannte ecaTEM®-Messung (100). Dieses Reagenz war zu Beginn unserer Studie

nicht verfügbar und ist bisher nicht für den diagnostischen Einsatz an Patienten bestimmt, sondern nur zu Forschungszwecken. Die von den Autoren benannte Einschränkung, dass die INTEM CT in der Studie von Engström et al. in niedrigen Konzentrationen nicht sensitiv genug zu sein scheint und die Werte im normalen Bereich blieben, ist nur bedingt nachzuvollziehen. Wenn man das Streudiagramm der Korrelation zwischen der INTEM CT und den Argatroban-Konzentrationen betrachtet, bleiben die gesamten INTEM CT-Werte nur bei der niedrigsten Konzentration von 0,125 µg/ml im Normalbereich. Im Vergleich zu den Baseline-Werten kommt es aber zu einem Anstieg. Hier wäre die Benutzung von *ratios* wünschenswert gewesen, die unabhängig von der Tatsache, dass sich die Werte im Normalbereich von 100 bis 240 Sekunden befanden, eine x-fache Verlängerung des Baseline-Wertes gezeigt hätten.

Unsere Daten zeigen, dass die INTEM CT während der Therapie mit Argatroban auch *in vivo* bei kritisch Kranken im Bereich sehr niedriger Plasmaspiegel korreliert.

Interessant ist, dass eine *in vitro* Untersuchung mit Lepirudin zu dem Ergebnis kommt, dass die ROTEM® für ein Lepirudin-Monitoring gerade in niedrigen Konzentrationen geeignet sein könnte. In dieser Studie kam zu einer signifikanten Verlängerung der INTEM CT bei Konzentrationen von 0,1 und 1 µg/ml im Vergleich zum Baseline-Wert (88). Sucker et al. untersuchten die Auswirkungen von Lepirudin auf INTEM-Parameter mit Konzentrationsreihen mit Vollblut von fünf gesunden Probanden. Lepirudin verlängerte die INTEM CT signifikant ab Dosierungen von 0,1 und 0,5 µg/ml im Vergleich zur Baseline-Messung. Die Autoren schlussfolgerten, dass ein Monitoring von Lepirudin mittels ROTEM® möglich sein könnte (89).

Unsere Messergebnisse bei kritisch kranken Patientinnen und Patienten, die mit Lepirudin behandelt wurden, stehen im Widerspruch zu *in vitro* Daten. Während der therapeutischen Antikoagulation mit Lepirudin in unserer Studie wurde ein mittlerer Plasmaspiegel von 0,17 µg/ml (Q25: 0,1; Q75: 0,32; Min.: 0,01; Max.: 0,73 µg/ml) erreicht. Die Verlängerung der INTEM CT im Vergleich zum Baseline-Wert war zu keinem Zeitpunkt signifikant; nur wenn Ausreißer und Extremwerte unberücksichtigt bleiben, war die INTEM CT nach 12 und 72 Stunden im Vergleich zur Baseline signifikant erhöht. Dennoch korrelierte die INTEM CT *ratio* aber signifikant mit dem Lepirudin-Plasmaspiegel. Der Einfluss des Baseline-Wertes scheint in diesem Zusammenhang also von Bedeutung zu sein.

### 4.3.2 Einfluss auf das extrinsische Gerinnungssystem

Der Einfluss von Argatroban und Lepirudin auf das extrinsische System ist bereits von einigen Autoren mit *in vitro* Studien beschrieben worden.

Eller et al. untersuchten den Einfluss von Argatroban auf die EXTEM CT anhand von Verdünnungsreihen mit Konzentrationen von 0,75 bis 1000 µg/ml. Die EXTEM CT verlängerte sich konzentrationsabhängig und signifikant (87).

Auch für Lepirudin gibt es entsprechende Daten, wonach sich die EXTEM CT ab Konzentrationen zwischen 0,5 bis 1 µg/ml verlängert. Auch diese Arbeiten schlussfolgern, dass die ROTEM® möglicherweise geeignet sei, um eine Lepirudin-Therapie zu überwachen (88, 89).

Es ist bekannt, dass der Quick-Wert durch Argatroban in therapeutischen Dosierungen dosisabhängig stark beeinflusst wird. Dies ist allerdings ein testbedingter Messeffekt und spiegelt nicht den tatsächlichen Gerinnungsstatus des Patienten wider. Beim Quick-Test wird die Gerinnungskaskade durch Zugabe von *tissue factor* aktiviert. Aus Prothrombin entsteht Thrombin. Argatroban fängt nun konzentrationsabhängig Thrombin ab und es kommt zu einer Abnahme des Quick-Wertes (101).

Dieses Phänomen ist klinisch problematisch, wenn eine Therapie mit einem oralen Vitamin-K-Antagonisten angestrebt oder aufgrund einer akuten Blutung eine Transfusion in Erwägung gezogen wird. Dann erschwert der „falsch niedrige“ Quick-Wert die Therapie erheblich (101). Andererseits könnte der Quick-Wert oder die EXTEM CT bei einer guten Korrelation mit dem Plasmaspiegel eine Monitoring-Option sein.

Grundsätzlich ist zu erwarten, dass bei Argatroban eine Dosis-Wirkung-Beziehung zwischen therapeutischen Argatroban-Plasmaspiegeln und dem Quick-Wert besteht. Eine Korrelation zwischen Argatroban-Plasmaspiegeln und dem Quick-Wert oder der EXTEM CT ist unseres Wissens *in vivo* zuvor noch nicht untersucht worden. *In vitro* verlängert Argatroban die EXTEM CT, allerdings wurden dabei zum Teil supratherapeutische Konzentrationen angewendet (87).

Überraschenderweise korrelierte in unserer Studie der Quick-Wert nicht mit dem Argatroban-Plasmaspiegel. Die Quick *ratio* hingegen zeigte eine gute inverse Korrelation zum Plasmaspiegel. Hier scheint also die Dynamik der Veränderung vom Ausgangsquickwert von großer Bedeutung zu sein und sollte daher in zukünftigen Untersuchungen stärker berücksichtigt werden.

Wir konnten zeigen, dass sich die EXTEM CT während der Therapie mit Argatroban zu allen Zeitpunkten signifikant verlängerte, in der Lepirudin-Gruppe zu den Zeitpunkten 12 und 72 Stunden. Die Plasmaspiegel von Argatroban und Lepirudin korrelierten signifikant

mit der EXTEM CT. Wiederum waren die Korrelationen bei den *ratios* noch stärker. Folglich sollten EXTEM CT und vor allem EXTEM CT *ratios* für ein Monitoring von Argatroban in Betracht gezogen werden.

### **4.3.3 Einfluss auf die gemeinsame Endstrecke des Gerinnungssystems**

Als konventioneller Laborparameter zur Untersuchung der gemeinsamen Endstrecke des Gerinnungssystems wird üblicherweise die TZ bestimmt. Deren Messdauer ist meist auf 150 Sekunden, in einigen Fällen sogar auf 120 Sekunden, begrenzt, da diese Zeit für die meisten klinischen Fragestellungen ausreichend ist und durch die Limitierung die Anzahl an Messungen pro Zeiteinheit erhöht werden kann. Für Blutproben, die Argatroban oder Lepirudin enthalten und deren Effekte durch die TZ abgebildet werden sollen, ist die Limitierung auf 150 Sekunden häufig jedoch zu kurz. Bei der Messung der TZ wird der Blutprobe im Labor Thrombin zugesetzt und die Dauer der dadurch initiierten Umwandlung von Fibrinogen zu Fibrin bestimmt. Wird durch die direkten Thrombininhibitoren nun das Thrombin gehemmt, verlängert sich die TZ entsprechend. Daher ist diese Messmethode für die Effekte von Thrombininhibitoren besonders sensitiv. Lepirudin beeinflusst die TZ *in vitro* dabei stärker als Argatroban (66). So kann auch eine Messdauer von 240 Sekunden für Lepirudin-Konzentrationen von 1 µg/ml zu kurz sein (70).

Auch in unserer Studie verlängerte sich die TZ nach Start der Studienmedikation in beiden Gruppen signifikant, auch waren die TZ-Messungen von mit Lepirudin behandelten Patientinnen und Patienten gegenüber solchen aus der Argatroban-Gruppe deutlich verlängert. Auch das Zeitlimit von 150 Sekunden wurde unter Lepirudin signifikant häufiger überschritten.

Hätte es in unserem Labor eine Limitierung der Messzeit auf 120 Sekunden gegeben, dann wären bis zu 59% der Messungen nicht zu Ende geführt worden. Da Lepirudin aktuell nicht mehr verfügbar ist, soll daher aber im Weiteren auf die Möglichkeit der TZ für das Monitoring der Therapie mit Argatroban eingegangen werden.

In unserer Untersuchung überschritten 4% der TZ-Messungen das Limit von 150 Sekunden, so dass die Aussagekraft der TZ *ratios* in diesen Fällen eingeschränkt ist. Hätte es wie in einigen Laboren üblich eine Begrenzung der Messdauer auf 120 Sekunden gegeben, hätten 13 Messungen die Begrenzung erreicht (entsprechend 23%). Dennoch zeigten die TZ Messwerte eine starke Korrelation zum Argatroban-Plasmaspiegel. Dies macht die TZ zu einer aussichtsreichen Messmethode für das Monitoring der Argatroban-Therapie. Einige Autoren verbesserten die Messgenauigkeit

durch Verdünnung des Blutes, was zu einer Verminderung der Konzentration des Thrombins führt (*diluted thrombin time*) (66, 102).

### 4.3 Zum Monitoring von Argatroban geeignete Methoden

Da Lepirudin international nicht mehr verfügbar ist, soll hier auf die Implikationen der in dieser Arbeit gezeigten Befunde für die Weiterentwicklung des Monitorings der Argatroban-Therapie eingegangen werden.

Festgelegte Zielbereiche für das Monitoring der Argatroban-Therapie sind bisher nur für die aPTT verfügbar. Dass die aPTT nicht ideal zum Monitoring geeignet ist, wurde mehrfach beschrieben und ist mittlerweile auch Expertenkonsens (39, 103). Die Messung des Argatroban-Plasmaspiegels mit dem Ecarin-Zeittest bzw. mit dessen Weiterentwicklung *ecarin chromogenic assay* ist weniger störanfällig und wird zur Überwachung der Therapie gerade für höhere Dosierungen von vielen Autoren empfohlen (39, 69, 71). Dieses Verfahren ist aber nur in wenigen Laboren vorhanden und das Ergebnis nicht sofort verfügbar. Die größte Hürde für die Anwendung der Messung von Plasmaspiegeln ist, dass bisher nicht bekannt ist, welche Plasmaspiegel überhaupt anzustreben sind. Zwar finden sich in der Literatur dazu vereinzelte Empfehlungen, diese werden aber typischerweise nicht zur Steuerung der Therapie genutzt, sondern verweisen paradoxerweise auf die aPTT. So wird beispielsweise für die prophylaktische Dosierung von Argatroban eine aPTT von 40 bis 50 Sekunden und für eine therapeutische Antikoagulation eine aPTT von 50 bis 70 Sekunden angestrebt. Die angegebenen Plasmaspiegel von 0,2 bis 0,4 µg/ml und von 0,4 bis 0,9 µg/ml „werden nicht zur Dosisadjustierung verwendet, sondern dienen zur Klärung unplausibler Konstellationen“. Für die Therapieführung sei die aPTT entscheidend (104).

Im Gegensatz zur aPTT scheint die TZ deutlich geeigneter zu sein, um Argatroban-Effekte auch bei kritisch Kranken abzubilden und gleichzeitig die Plasmaspiegel zu reflektieren. Diese Messmethode ist aber durch die Begrenzung der Messdauer eingeschränkt geeignet. Wollte man diese Methode als Routineparameter für das Therapie-Monitoring nutzen, müssten eine längere Messdauer implementiert und Zielbereiche für die prophylaktische und therapeutische Antikoagulation ermittelt werden.

Eine andere Option bietet die sogenannte *diluted thrombin time*, bei der die Proben vor der TZ-Messung verdünnt werden, um aussagekräftige Ergebnisse zu liefern, die nicht durch eine Messzeit-Limitierung eingeschränkt sind (66, 102). Dieses Vorgehen ist jedoch recht aufwändig und zeitintensiv und hat sich daher noch nicht durchgesetzt.

Eine andere Möglichkeit bietet die kommerziell erhältliche Hemoclot<sup>®</sup>-Messung (CoaChrom Diagnostica GmbH, Wien, Österreich). Es handelt sich dabei um eine indirekte Bestimmung des Plasmaspiegels. Dabei wird das verdünnte Probenplasma zur Bestimmung des Argatroban-Plasmaspiegels zunächst mit humanem, gepooltem Normalplasma versetzt. Durch Zugabe einer konstanten Menge Thrombin wird die Gerinnung aktiviert. Die gemessene Zeit bis zur Bildung eines Gerinnsels verhält sich direkt proportional zur Argatroban-Konzentration im Testplasma. Vor der eigentlichen Messung müssen die Reagenzien konstituiert und inkubiert und die Testprobe zentrifugiert werden (105). Dieses Verfahren scheint für Argatroban bislang nicht weit verbreitet zu sein und das Ergebnis ist nicht schnell vorhanden. Auch für dieses Verfahren stellt sich, wie für die oben diskutierte ecarinbasierte Messung der Plasmaspiegel, die Frage nach Zielbereichen. Dabei ist zu berücksichtigen, dass die mittels paralleler Messungen bestimmten Plasmaspiegel von Argatroban mit Hemoclot<sup>®</sup> und ECA *in vivo* um bis zu 50% voneinander abweichen (106).

Dass die ROTEM<sup>®</sup> zum Monitoring von Argatroban geeignet sein könnte, wurde durch *in vitro* Studien gezeigt (75, 87, 88, 89). Unserer Kenntnis nach konnten wir zum ersten Mal im Rahmen einer prospektiven und doppelblinden Studie *in vivo* zeigen, dass die INTEM CT, die EXTEM CT und deren *ratios* bei kritisch Kranken gut mit dem vergleichsweise niedrigen Argatroban-Plasmaspiegel korrelieren. Ein Vorteil der ROTEM<sup>®</sup> im Vergleich zu Gerinnungsparametern wie aPTT, TZ und Quick ist, dass die Reagenzien für die ROTEM<sup>®</sup> standardisiert und die Normwerte für alle Messungen festgelegt sind und sich nicht von Reagenz zu Reagenz und von Labor zu Labor unterscheiden. ROTEM<sup>®</sup>-Messungen sind verlässlicher als aPTT-Messungen verschiedener Hersteller (94, 107).

Bei konventionellen Gerinnungstests muss auf das Ergebnis gewartet werden, während die ROTEM<sup>®</sup>-Messungen bettseitig durchgeführt werden können und schnell verfügbar sind. Mit der ROTEM<sup>®</sup> liegen Ergebnisse ungefähr 30 bis 60 Minuten schneller vor als die konventionellen Gerinnungsparameter aus einem Labor (108, 109, 110). Die ROTEM<sup>®</sup> bietet darüber hinaus mehr Informationen als nur die Dauer bis zum Einsetzen der Gerinnung in Sekunden. Durch verschiedene erhältliche Reagenzien und die graphische Darstellung auch nach Beginn der Gerinnselbildung hinaus, können unterschiedliche Abläufe und Interaktionen des Gerinnungsprozesses differenziert betrachtet werden. Dazu zählen die Einflüsse von Gerinnungsfaktoren und -inhibitoren, Thrombozyten und des Fibrinogens bei Blutungen, Verdünnungskoagulopathien und während chirurgischer Blutungen. Ebenso kann eine Fibrinolyse detektiert werden.

Weitere Studien scheinen sinnvoll und gerechtfertigt, um die Möglichkeiten der ROTEM<sup>®</sup> zur patienten- und bedarfsadaptierten, dynamischen Überwachung der Therapie mit

Argatroban und möglicherweise auch anderen direkten Thrombininhibitoren zu untersuchen.

#### **4.4 Einfluss von Argatroban und Lepirudin auf die Gerinnselfestigkeit**

Der Einfluss von Argatroban und Lepirudin auf die Gerinnselfestigkeit wurde bisher *in vitro* in einigen Studien untersucht.

Mittels TEG<sup>®</sup> wurde gezeigt, dass Argatroban die Gerinnselfestigkeit nicht beeinflusst. Für Lepirudin war erst bei ausgesprochen hohen Konzentrationen eine Abnahme nachweisbar, während es unter Heparin schon in üblichen Konzentrationen zu einer Abnahme der Gerinnselfestigkeit kam (90, 91).

Mit der ROTEM<sup>®</sup> wurden widersprüchliche Ergebnisse *in vitro* gefunden. Engström et al. fanden zwischen der Argatroban-Konzentration und der INTEM MCF keine Korrelation (75). *In vitro* kam es erst mit suprathérapeutischen Dosierungen von Lepirudin zu einer Abnahme der INTEM und EXTEM MCF (111, 112). Feuring et al. fanden eine signifikante Abnahme der EXTEM MCF mit einer Lepirudin-Konzentration von 1 µg/ml ( $60,2 \pm 4,3$  mm vs.  $55,5 \pm 6,5$  mm;  $p=0,012$ ). Die INTEM MCF verringerte sich ebenfalls, aber nicht signifikant (88). Ob die statistisch signifikante Abnahme auch einen klinischen Einfluss durch eine erhöhte Blutungsneigung bedeutet, wurde nicht untersucht. Der Normwert der EXTEM MCF liegt bei 50-72 mm, somit waren die meisten Werte zumindest im Normbereich. Neben diesen *in vitro* Studien gibt es lediglich zwei Untersuchungen mit der TEG<sup>®</sup>, die während einer Antikoagulation mit Argatroban durchgeführt wurden. Diese zeigten keine Abnahme der Gerinnselfestigkeit (90).

Verminderte EXTEM und FIBTEM MCF-Werte sind bei Trauma-Patienten und Patienten mit extrakorporaler Membranoxygenierung und *ventricular assist device* mit einem höheren Risiko von Blutungen und einer erhöhten Mortalitätsrate assoziiert (111, 112). Für Patienten, die sich einer koronaren Bypass-OP unterzogen, konnte gezeigt werden, dass eine FIBTEM MCF <8mm ein erhöhtes Risiko für eine postoperative Blutung von >600ml anzeigte (84).

In unserer Studie wies nur ein Patient sowohl verminderte EXTEM als auch FIBTEM MCF-Werte auf und zwar bereits zum Zeitpunkt Baseline (45 mm und 6 mm; Thrombozyten 230/nl und Fibrinogen 159 mg/dl). Bei diesem Patienten kam es zu einer Blutungskomplikation.

Wie in der Einleitung beschrieben sind die MCF von INTEM und EXTEM hauptsächlich abhängig von der Fibrinogenkonzentration und der Thrombozytenzahl. Bei der FIBTEM MCF Messung werden nur die Effekte des Fibrinogens gemessen, da die Thrombozyten durch Inhibition mit Cytochalasin D ausgeschaltet sind. Der mittlere Fibrinogen-Wert lag in unserer Studie in beiden Gruppen deutlich über dem Normwert von 450 mg/dl. Fibrinogen ist ein Akut-Phase-Protein und ist daher bei kritisch Kranken häufig erhöht. Auch perioperativ kann eine erhöhte Fibrinogenkonzentration auftreten, wodurch die MCF in INTEM, EXTEM und FIBTEM sogar signifikant ansteigen kann (113).

Unsere Daten bestätigen, dass unter einer therapeutischen Antikoagulation die Therapie mit Argatroban und Lepirudin keinen negativen Einfluss auf die Gerinnselfestigkeit hat.

#### **4.5 Limitationen**

Die Aussage der Studie ist durch die eher geringe Patientenzahl von 35 begrenzt. Es konnten aber insgesamt 453 INTEM-, EXTEM- und FIBTEM-Messungen ausgewertet werden und ist damit nach unserem Wissen die umfangreichste *in vivo* Untersuchung bei einem Patientenkollektiv kritisch Kranker. Unsere Ergebnisse dürfen jedoch nicht auf andere Patientenkollektive übertragen werden.

Die Argatroban-Dosierung in unserer Studie war niedriger als in der zu Studienbeginn verfügbaren Fachinformation empfohlen. Es war aber zu Studienstart bereits mehrfach in der Literatur beschrieben, dass gerade bei kritisch Kranken niedrigere Dosierungen ausreichend sind (44, 46, 47, 48, 114). Dementsprechend ist es besonders relevant, dass der Hersteller mittlerweile die Dosierungsempfehlungen für kritisch Kranke nach unten korrigiert hat (40). Es ist möglich, dass wir bereits in der Literatur beschriebene *in vitro* Untersuchungen nicht bestätigen können, weil wir einen kleineren Konzentrationsbereich betrachtet haben. Weitere Untersuchungen in anderen Dosisbereichen sind notwendig, um die Eignung der ROTEM<sup>®</sup> und der TZ für das Monitoring der Argatroban-Therapie zu nutzen. Außerdem sind Untersuchungen mit Endpunkten wie Thrombosen und Blutungen notwendig, um den Einfluss auf die Therapierelevanz zu evaluieren.

Grundsätzlich könnte ein Heparineffekt bei Messungen von intrinsischen Parametern wie aPTT und INTEM CT vor Studienstart noch vorhanden gewesen sein. Wir verwendeten keinen HEPTM-Test, der dies bei der INTEM CT hätte ausschließen können.

Calcium und Lactat waren zwischen den beiden Gruppen vor Studienstart statistisch signifikant unterschiedlich, aus klinischer Sicht messen wir diesem Befund aber keine Bedeutung bei.

Wir verwendeten Korrelationen zwischen Gerinnungsparametern und Plasmaspiegeln (ECA). Es gibt keine sichere Aussage, welcher Ziel-Plasmaspiegel notwendig ist. Die Plasmaspiegelbestimmung ist aber weniger störanfällig als die aPTT und wird – falls vorhanden – empfohlen (39). Welcher Zielbereich für die ROTEM®-Parameter anzustreben und welcher ROTEM®-Parameter am geeignetsten ist, kann durch unsere Studie nicht abschließend beantwortet werden.

Änderungen des Gerinnungsstatus des Patienten selbst können zu Veränderungen der Gerinnungsparameter führen. Durch Bilden von *ratios* wird der Einfluss eines veränderten Baseline-Wertes vermindert. Für die Bestimmung der *ratios* muss eigenständig ein Quotient gebildet werden. Dies kann bei hohen Arbeitsbelastungen auf Intensivstationen umständlich erscheinen. Für die Therapieüberwachung mit der aPTT ist laut Fachinformation aber ebenfalls ein Quotient zu bilden.

2012 wurde Lepirudin (Refludan®) durch den Hersteller vom Markt genommen. Da es keine sicherheitsrelevanten Ursachen gab, liegen dieser Entscheidung vermutlich ökonomische Überlegungen zu Grunde. Argatroban ist momentan das einzige alternative Antikoagulanz, das zur intravenösen Therapie bei Patienten mit HIT zugelassen ist. Unsere Ergebnisse sind somit nur für Argatroban klinisch relevant.

#### **4.6 Schlussfolgerung**

Die aPTT verlängerte sich nach Start der Studienmedikation in beiden Gruppen zwar signifikant, sie korrelierte aber nicht mit den Plasmaspiegeln und ist zum Monitoring von Argatroban und Lepirudin nicht ideal geeignet. Die TZ korrelierte gut mit den Plasmaspiegeln, ist aber durch die Messzeitlimitierung nur mit Einschränkungen geeignet. Therapeutische Zielbereiche liegen in der Literatur aber bisher nicht vor. Zukünftige Untersuchungen sollten die TZ als möglichen Monitoring-Parameter beleuchten.

Wir konnten zeigen, dass die ROTEM®-Parameter INTEM CT, EXTEM CT und insbesondere deren *ratios* gut mit den Plasmaspiegeln von Argatroban und Lepirudin korrelieren. Wir schließen daraus, dass die ROTEM® zum Monitoring von Argatroban und Lepirudin geeignet sein könnte. Prospektive Studien sind notwendig, um dies zu validieren.

Während der Therapie mit den DTIs verminderte sich die MCF in INTEM, EXTEM und FIBTEM nicht signifikant. Wir schließen daraus, dass die Gerinnselfestigkeit während einer therapeutischen Antikoagulation mit Argatroban und Lepirudin nicht abnimmt.

## 5 Literaturverzeichnis

1. Encke A, Haas S, Sauerland S, et al. Prophylaxe der venösen Thromboembolie (VTE). *VASA*. 2009;38(0):1-131. doi:10.1024/0301-1526.38.S76.1.
2. Attia J, Ray JG, Cook DJ, Douketis J, Ginsberg JS, Geerts WH. Deep vein thrombosis and its prevention in critically ill adults. *Arch Intern Med*. 2001;161(10):1268-1279. doi:10.1001/archinte.161.10.1268.
3. Cade JF. High risk of the critically ill for venous thromboembolism. *Crit Care Med July 1982*. 1982;10(7):448-450.
4. Kakkar V. Prevention of Fatal Postoperative Pulmonary Embolism by Low Doses of Heparin: An International Multicentre Trial. *The Lancet*. 1975;306(7924):45-51. doi:10.1016/S0140-6736(75)90494-8.
5. Kiil J, Axelsen F, Kiil J, Andersen D. Prophylaxis against postoperative pulmonary embolism and deep-vein thrombosis by low-dose heparin. *The Lancet*. 1978;311(8074):1115–1116.
6. Kakkar VV, Murray WJG. Efficacy and safety of low-molecular-weight heparin (CY216) in preventing postoperative venous thrombo-embolism: A co-operative study. *Br J Surg*. 1985;72(10):786–791.
7. Turpie AG, Levine MN, Hirsh J, et al. A randomized controlled trial of a low-molecular-weight heparin (enoxaparin) to prevent deep-vein thrombosis in patients undergoing elective hip surgery. *N Engl J Med*. 1986;315(15):925-929. doi:10.1056/NEJM198610093151503.
8. Ockelford PA, Patterson J, Johns AS. A double-blind randomized placebo controlled trial of thromboprophylaxis in major elective general surgery using once daily injections of a low molecular weight heparin fragment (Fragmin). *Thromb Haemost*. 1989;62(4):1046-1049.
9. Pezzuoli G, Neri Serneri GG, Settembrini PG, et al. Effectiveness and safety of the low-molecular-weight heparin CY 216 in the prevention of fatal pulmonary embolism and thromboembolic death in general surgery. A multicentre, double-blind, randomized, controlled clinical trial versus placebo (STEP). STEP Study Group. *Haemostasis*. 1990;20 Suppl 1:193-204.
10. Alhazzani W, Lim W, Jaeschke RZ, Murad MH, Cade J, Cook DJ. Heparin Thromboprophylaxis in Medical-Surgical Critically Ill Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Trials\*. *Crit Care Med*. 2013;41(9):2088-2098. doi:10.1097/CCM.0b013e31828cf104.
11. Gould MK, Donington J, Lynch WR, et al. Prevention of VTE in Nonorthopedic Surgical Patients: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest*. 2013;143(5):e93S–e120S.
12. Falck-Ytter Y, Francis CW, Johanson NA, et al. Prevention of VTE in Orthopedic Surgical Patients: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest*. 2012;141(2):e278S–e325S.

13. Warkentin TE, Kelton JG. Temporal aspects of heparin-induced thrombocytopenia. *N Engl J Med*. 2001;344(17):1286–1292.
14. Warkentin TE, Roberts RS, Hirsh J, Kelton JG. An improved definition of immune heparin-induced thrombocytopenia in postoperative orthopedic patients. *Arch Intern Med*. 2003;163(20):2518-2524. doi:10.1001/archinte.163.20.2518.
15. Warkentin TE, Kelton JG. A 14-year study of heparin-induced thrombocytopenia. *Am J Med*. 1996;101(5):502–507.
16. Chong BH. Heparin-induced thrombocytopenia. *Blood Rev*. 1988;2(2):108-114. doi:10.1016/0268-960X(88)90032-X.
17. Natelson EA, Lynch EC, Alfrey CP Jr, Gross JB. Heparin-induced thrombocytopenia. An unexpected response to treatment of consumption coagulopathy. *Ann Intern Med*. 1969;71(6):1121-1125.
18. Fratantoni J, Pollet R, Gralnick H. Heparin-induced thrombocytopenia: confirmation of diagnosis with in vitro methods. *Blood*. 1975;45(3):395-401.
19. Roberts B, Rosato FE, Rosato EF. Heparin--a cause of arterial emboli? *Surgery*. 1964;55:803-808.
20. Rhodes GR, Dixon RH, Silver D. Heparin induced thrombocytopenia: eight cases with thrombotic-hemorrhagic complications. *Ann Surg*. 1977;186(6):752-758.
21. Amiral J, Bridey F, Dreyfus M, et al. Platelet factor 4 complexed to heparin is the target for antibodies generated in heparin-induced thrombocytopenia. *Thromb Haemost*. 1992;68(1):95-96.
22. Gerotziafas GT, Elalamy I, Lecrubier C, et al. The role of platelet factor 4 in platelet aggregation induced by the antibodies implicated in heparin-induced thrombocytopenia. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2001;12(7):511–520.
23. Visentin GP, Ford SE, Scott JP, Aster RH. Antibodies from patients with heparin-induced thrombocytopenia/thrombosis are specific for platelet factor 4 complexed with heparin or bound to endothelial cells. *J Clin Invest*. 1994;93(1):81.
24. Kelton JG, Smith JW, Warkentin TE, Hayward CP, Denomme GA, Horsewood P. Immunoglobulin G from patients with heparin-induced thrombocytopenia binds to a complex of heparin and platelet factor 4. *Blood*. 1994;83(11):3232–3239.
25. Martel N. Risk for heparin-induced thrombocytopenia with unfractionated and low-molecular-weight heparin thromboprophylaxis: a meta-analysis. *Blood*. 2005;106(8):2710-2715. doi:10.1182/blood-2005-04-1546.
26. Visentin GP. Heparin-Induced Thrombocytopenia: Molecular Pathogenesis. *Thromb Haemost*. 1999;82(2):448-456.
27. Kelton JG, Sheridan D, Santos A, et al. Heparin-induced thrombocytopenia: laboratory studies. *Blood*. 1988;72(3):925–930.
28. Chong BH, Fawaz I, Chesterman CN, Berndt MC. Heparin-induced thrombocytopenia: mechanism of interaction of the heparin-dependent antibody with platelets. *Br J Haematol*. 1989;73(2):235-240.

29. Warkentin TE, Hayward CP, Boshkov LK, et al. Sera from patients with heparin-induced thrombocytopenia generate platelet-derived microparticles with procoagulant activity: an explanation for the thrombotic complications of heparin-induced thrombocytopenia. *Blood*. 1994;84(11):3691–3699.
30. Greinacher A. Heparin-Induced Thrombocytopenia. *N Engl J Med*. 2015;373(3):252-261. doi:10.1056/NEJMcp1411910.
31. Rauova L, Hirsch JD, Greene TK, et al. Monocyte-bound PF4 in the pathogenesis of heparin-induced thrombocytopenia. *Blood*. 2010;116(23):5021-5031. doi:10.1182/blood-2010-03-276964.
32. Kasthuri RS, Glover SL, Jonas W, et al. PF4/heparin-antibody complex induces monocyte tissue factor expression and release of tissue factor positive microparticles by activation of Fc RI. *Blood*. 2012;119(22):5285-5293. doi:10.1182/blood-2011-06-359430.
33. Warkentin T. History of heparin-induced thrombocytopenia. In: *Warkentin TE, Greinacher A, Eds. Heparin-Induced Thrombocytopenia, Fifth Edition*. Fundamental and Clinical Cardiology. Boca Raton, USA: CRC Press; 2012:1-23.
34. Warkentin T, Greinacher A. Treatment of heparin-induced thrombocytopenia: An overview. In: *Warkentin TE, Greinacher A, Eds. Heparin-Induced Thrombocytopenia, Fifth Edition*. Fundamental and Clinical Cardiology. Boca Raton, USA: CRC Press; 2012:315-355.
35. Okamoto S, Hijikata A, Kikumoto R, et al. Potent inhibition of thrombin by the newly synthesized arginine derivative No. 805. The importance of stereo-structure of its hydrophobic carboxamide portion. *Biochem Biophys Res Commun*. 1981;101(2):440-446.
36. Green D, Ts' ao C, Reynolds N, Kahn D, Kohl H, Cohen I. In vitro studies of a new synthetic thrombin inhibitor. *Thromb Res*. 1985;37(1):145–153.
37. Kikumoto R, Tamao Y, Tezuka T, et al. Selective inhibition of thrombin by (2R,4R)-4-methyl-1-[N2-[1,2,3,4-tetrahydro-8-quinolinyl)sulfonyl]-L-arginyl]-2-piperidinecarboxylic acid. *Biochemistry (Mosc)*. 1984;23(1):85-90. doi:10.1021/bi00296a014.
38. Berry CN, Girardot C, Lecoffre C, Lunven C. Effects of the synthetic thrombin inhibitor argatroban on fibrin- or clot-incorporated thrombin: comparison with heparin and recombinant Hirudin. *Thromb Haemost*. 1994;72(3):381-386.
39. Alatri A, Armstrong A-E, Greinacher A, et al. Results of a consensus meeting on the use of argatroban in patients with heparin-induced thrombocytopenia requiring antithrombotic therapy – A European Perspective. *Thromb Res*. 2012;129(4):426-433. doi:10.1016/j.thromres.2011.11.041.
40. Fachinfo Argatra Multidose. <http://www.fachinfo.de/data/fi/jsearch/FachInfo/data/fi/pdf/01/27/012715.pdf>. Accessed May 19, 2013.
41. Kumada T, Abiko Y. Comparative study on heparin and a synthetic thrombin inhibitor No. 805 (MD-805) in experimental antithrombin III-deficient animals. *Thromb Res*. 1981;24(4):285–298.

42. Walenga JM, Ahmad S, Hoppensteadt D, Iqbal O, Hursting MJ, Lewis BE. Argatroban therapy does not generate antibodies that alter its anticoagulant activity in patients with heparin-induced thrombocytopenia. *Thromb Res.* 2002;105(5):401-405.
43. Fachinfo Argatra. [http://www.klinikum.uni-heidelberg.de/fileadmin/medizinische\\_klinik/Abteilung\\_3/pdf/ivandic/FI\\_argatra.pdf](http://www.klinikum.uni-heidelberg.de/fileadmin/medizinische_klinik/Abteilung_3/pdf/ivandic/FI_argatra.pdf). Accessed October 27, 2013.
44. Verme-Giboney CN, Hursting MJ. Argatroban Dosing in Patients with Heparin-Induced Thrombocytopenia. *Ann Pharmacother.* 2003;37(7-8):970-975. doi:10.1345/aph.1C443.
45. Swan SK, Hursting MJ. The pharmacokinetics and pharmacodynamics of argatroban: effects of age, gender, and hepatic or renal dysfunction. *Pharmacotherapy.* 2000;20(3):318-329.
46. Beiderlinden M, Treschan TA, Görlinger K, Peters J. Argatroban anticoagulation in critically ill patients. *Ann Pharmacother.* 2007;41(5):749-754. doi:10.1345/aph.1H569.
47. Keegan SP, Gallagher EM, Ernst NE, Young EJ, Mueller EW. Effects of critical illness and organ failure on therapeutic argatroban dosage requirements in patients with suspected or confirmed heparin-induced thrombocytopenia. *Ann Pharmacother.* 2009;43(1):19-27. doi:10.1345/aph.1L224.
48. Levine RL, Hursting MJ, McCollum D. Argatroban therapy in heparin-induced thrombocytopenia with hepatic dysfunction. *Chest.* 2006;129(5):1167-1175. doi:10.1378/chest.129.5.1167.
49. Koster A, Buz S, Hetzer R, Kuppe H, Breddin K, Harder S. Anticoagulation with argatroban in patients with heparin-induced thrombocytopenia antibodies after cardiovascular surgery with cardiopulmonary bypass: First results from the ARG-E03 trial. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2006;132(3):699-700. doi:10.1016/j.jtcvs.2006.04.034.
50. Lewis BE, Wallis DE, Berkowitz SD, et al. Argatroban Anticoagulant Therapy in Patients With Heparin-Induced Thrombocytopenia ARG911. *Circulation.* 2001;103(14):1838-1843. doi:10.1161/01.CIR.103.14.1838.
51. Lewis BE, Wallis DE, Leya F, Hursting MJ, Kelton JG, et al. Argatroban anticoagulation in patients with heparin-induced thrombocytopenia ARG915. *Arch Intern Med.* 2003;163(15):1849-1856. doi:10.1001/archinte.163.15.1849.
52. Markwardt F. Hirudin As Alternative Anticoagulant- A Historical Review. *Semin Thromb Hemost.* 2002;28(5):405-414. doi:10.1055/s-2002-35292.
53. Markwardt F. Untersuchungen über Hirudin. *Naturwissenschaften.* 1955;42(19):537-538. doi:10.1007/BF00630151.
54. Dodt J, Müller H-P, Seemüller U, Chang J-Y. The complete amino acid sequence of hirudin, a thrombin specific inhibitor: application of colour carboxymethylation. *FEBS Lett.* 1984;165(2):180-184.
55. Dodt J, Machleidt W, Seemüller U, Maschler R, Fritz H. Isolation and Characterization of Hirudin Isoinhibitors and Sequence Analysis of Hirudin PA. *Biol Chem Hoppe Seyler.* 1986;367(2):803-812.

56. Markwardt F. Untersuchungen über den Mechanismus der blutgerinnungshemmenden Wirkung des Hirudins. *Naunyn-Schmiedebergs Arch Für Exp Pathol Pharmacol.* 1956;229(4):389-399. doi:10.1007/BF00245864.
57. Harvey RP, Degryse E, Stefani L, et al. Cloning and expression of a cDNA coding for the anticoagulant hirudin from the bloodsucking leech, *Hirudo medicinalis*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1986;83(4):1084-1088.
58. Greinacher A, Warkentin TE. The direct thrombin inhibitor hirudin. *Thromb Haemost.* April 2008. doi:10.1160/TH07-11-0693.
59. Fachinfo Refludan.  
<http://www.fachinfo.de/data/fi/jsearch/FachInfo/data/fi/pdf/00/60/006033.pdf>. Accessed October 27, 2013.
60. Greinacher A, Janssens U, Berg G, et al. Lepirudin (recombinant hirudin) for parenteral anticoagulation in patients with heparin-induced thrombocytopenia. Heparin-Associated Thrombocytopenia Study (HAT) investigators. *Circulation.* 1999;100(6):587-593.
61. Lubenow N, Eichler P, Lietz T, Greinacher A, Hit Investigators Group. Lepirudin in patients with heparin-induced thrombocytopenia - results of the third prospective study (HAT-3) and a combined analysis of HAT-1, HAT-2, and HAT-3. *J Thromb Haemost JTH.* 2005;3(11):2428-2436. doi:10.1111/j.1538-7836.2005.01623.x.
62. Greinacher A, Völpel H, Janssens U, et al. Recombinant Hirudin (Lepirudin) Provides Safe and Effective Anticoagulation in Patients With Heparin-Induced Thrombocytopenia A Prospective Study. *Circulation.* 1999;99(1):73-80. doi:10.1161/01.CIR.99.1.73.
63. Tardy B, Lecompte T, Boelhen F, et al. Predictive factors for thrombosis and major bleeding in an observational study in 181 patients with heparin-induced thrombocytopenia treated with lepirudin. *Blood.* 2006;108(5):1492-1496. doi:10.1182/blood-2006-02-001057.
64. Eichler P, Friesen HJ, Lubenow N, Jaeger B, Greinacher A. Antihirudin antibodies in patients with heparin-induced thrombocytopenia treated with lepirudin: incidence, effects on aPTT, and clinical relevance. *Blood.* 2000;96(7):2373-2378.
65. Gosselin RC, King JH, Janatpour KA, Dager WE, Larkin EC, Owings JT. Comparing direct thrombin inhibitors using aPTT, ecarin clotting times, and thrombin inhibitor management testing. *Ann Pharmacother.* 2004;38(9):1383-1388. doi:10.1345/aph.1D565.
66. Ivandic B, Zorn M. Monitoring of the Anticoagulants Argatroban and Lepirudin : A Comparison of Laboratory Methods. *Clin Appl Thromb Off J Int Acad Clin Appl Thromb.* September 2010. doi:10.1177/1076029610382651.
67. Tripodi A, Chantarangkul V, Arbini AA, Moia M, Mannucci PM. Effects of hirudin on activated partial thromboplastin time determined with ten different reagents. *Thromb Haemost.* 1993;70(2):286-288.
68. Warkentin TE. Anticoagulant failure in coagulopathic patients: PTT confounding and other pitfalls. *Expert Opin Drug Saf.* 2014;13(1):25-43. doi:10.1517/14740338.2013.823946.

69. Siegmund R, Boer K, Poeschel K, Wolf G, Deufel T, Kiehntopf M. Comparison of the ecarin chromogenic assay and different aPTT assays for the measurement of argatroban concentrations in plasma from healthy individuals and from coagulation factor deficient patients. *Thromb Res.* 2008;123(1):159-165. doi:10.1016/j.thromres.2008.02.013.
70. Curvers J, van de Kerkhof D, Stroobants AK, van den Dool E-J, Scharnhorst V. Measuring Direct Thrombin Inhibitors With Routine and Dedicated Coagulation Assays: Which Assay Is Helpful? *Am J Clin Pathol.* 2012;138(4):551-558. doi:10.1309/AJCPQOD9WFPEYY0H.
71. Lange U, Olschewski A, Nowak G. Ecarin Chromogenic Assay Innovativer Test zur quantitativen Bestimmung direkter Thrombininhibitoren im Plasma. *Hämostaseologie.* 2005; 25(3):293-300.
72. Di Nisio M, Middeldorp S, Büller HR. Direct thrombin inhibitors. *N Engl J Med.* 2005;353(10):1028-1040. doi:10.1056/NEJMra044440.
73. Smythe MA, Forsyth LL, Warkentin TE, Smith MD, Sheppard J-AI, Shannon F. Progressive, Fatal Thrombosis Associated With Heparin-Induced Thrombocytopenia After Cardiac Surgery Despite "Therapeutic" Anticoagulation With Argatroban: Potential Role for PTT and ACT Confounding. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2015;29(5):1319-1321. doi:10.1053/j.jvca.2014.04.029.
74. Schaden E, Kozek-Langenecker SA. Direct thrombin inhibitors: pharmacology and application in intensive care medicine. *Intensive Care Med.* 2010;36(7):1127-1137. doi:10.1007/s00134-010-1888-3.
75. Engström M, Rundgren M, Schött U. An evaluation of monitoring possibilities of argatroban using rotational thromboelastometry and activated partial thromboplastin time. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2010;54(1):86-91. doi:10.1111/j.1399-6576.2009.02082.x.
76. Huissoud C, Carrabin N, Audibert F, et al. Bedside assessment of fibrinogen level in postpartum haemorrhage by thrombelastometry. *BJOG Int J Obstet Gynaecol.* 2009;116(8):1097-1102. doi:10.1111/j.1471-0528.2009.02187.x.
77. Hartert H. Blutgerinnungsstudien mit der Thrombelastographie, einem neuen Untersuchungsverfahren. *Klin Wochenschr.* 1948;26(37-38):577-583.
78. Calatzis A, Calatzis A, Fritzsche P. Weiterentwicklungen der Thrombelastographie: Automatische Computerauswertung und Neuentwicklung eines Thrombelastographen. *Biomed Tech Eng.* 1995;40(s1):393-394. doi:10.1515/bmte.1995.40.s1.393.
79. Schöch H, Nienaber U, Maegele M, et al. Transfusion in trauma: thromboelastometry-guided coagulation factor concentrate-based therapy versus standard fresh frozen plasma-based therapy. *Crit Care.* 2011;15(2):R83.
80. Schöch H, Cotton B, Inaba K, et al. FIBTEM provides early prediction of massive transfusion in trauma. *Crit Care.* 2011;15(6):R265.
81. Görlinger K. [Coagulation management during liver transplantation]. *Hämostaseologie.* 2006;26(3 Suppl 1):S64-76.
82. Blasi A, Beltran J, Pereira A, et al. An assessment of thromboelastometry to monitor blood coagulation and guide transfusion support in liver transplantation:

- THROMBOELASTOMETRY IN LIVER TRANSPLANTATION. *Transfusion (Paris)*. 2012;52(9):1989-1998. doi:10.1111/j.1537-2995.2011.03526.x.
83. Roullet S, Pillot J, Freyburger G, et al. Rotation thromboelastometry detects thrombocytopenia and hypofibrinogenaemia during orthotopic liver transplantation. *Br J Anaesth*. 2010;104(4):422-428. doi:10.1093/bja/aeq022.
  84. Reinhofer M, Brauer M, Franke U, Barz D, Marx G, Losche W. The value of rotation thromboelastometry to monitor disturbed perioperative haemostasis and bleeding risk in patients with cardiopulmonary bypass. *Blood Coagul Fibrinolysis April 2008*. 2008;19(3):212-219. doi:10.1097/MBC.0b013e3282f3f9d4.
  85. Weber CF, Görlinger K, Meininger D, et al. Point-of-care testing: a prospective, randomized clinical trial of efficacy in coagulopathic cardiac surgery patients. *Anesthesiology*. 2012;117(3):531-547. doi:10.1097/ALN.0b013e318264c644.
  86. Kozek-Langenecker S, Afshari A, Albaladejo P, et al. Management of severe perioperative bleeding: Guidelines from the European Society of Anaesthesiology. [Miscellaneous Article]. *J Anaesthesiol June 2013*. 2013;30(6):270-382. doi:10.1097/EJA.0b013e32835f4d5b.
  87. Eller T, Busse J, Dittrich M, et al. Dabigatran, rivaroxaban, apixaban, argatroban and fondaparinux and their effects on coagulation POC and platelet function tests. *Clin Chem Lab Med*. 2014;0(0):1-10. doi:10.1515/cclm-2013-0936.
  88. Feuring M, Wehling M, Schultz A. Lepirudin dose-dependently increases thrombelastography parameters at therapeutic plasma concentrations as measured with ROTEM® – a pilot study. *Int J Clin Pharmacol Ther*. September 2011. doi:10.5414/CP201542.
  89. Sucker C, Zotz RB, Görlinger K, Hartmann M. Rotational thrombelastometry for the bedside monitoring of recombinant hirudin. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2008;52(3):358-362. doi:10.1111/j.1399-6576.2007.01550.x.
  90. Young G, Yonekawa KE, Nakagawa PA, Blain RC, Lovejoy AE, Nugent DJ. Differential effects of direct thrombin inhibitors and antithrombin-dependent anticoagulants on the dynamics of clot formation. *Blood Coagul Fibrinolysis Int J Haemost Thromb*. 2007;18(2):97-103. doi:10.1097/MBC.0b013e3280116c4c.
  91. Nielsen VG, Steenwyk BL, Gurley WQ, Pereira SJ, Lell WA, Kirklin JK. Argatroban, bivalirudin, and lepirudin do not decrease clot propagation and strength as effectively as heparin-activated antithrombin in vitro. *J Heart Lung Transplant*. 2006;25(6):653–663.
  92. Treschan TA, Schaefer MS, Geib J, et al. Argatroban versus Lepirudin in critically ill patients (ALicia): a randomized controlled trial. *Crit Care*. 2014;18(5):588.
  93. Lo GK, Juhl D, Warkentin TE, Sigouin CS, Eichler P, Greinacher A. Evaluation of pretest clinical score (4 T's) for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia in two clinical settings. *J Thromb Haemost*. 2006;4(4):759–765.
  94. Francis JL, Hursting MJ. Effect of argatroban on the activated partial thromboplastin time: a comparison of 21 commercial reagents. *Blood Coagul Fibrinolysis Int J Haemost Thromb*. 2005;16(4):251-257.
  95. Keyl C, Zimmer E, Bek MJ, Wiessner M, Trenk D. Argatroban pharmacokinetics and pharmacodynamics in critically ill cardiac surgical patients with suspected

- heparin-induced thrombocytopenia: *Thromb Haemost.* 2016;115(6):1081-1089. doi:10.1160/TH15-11-0847.
96. Guy S, Kitchen S, Van Veen JJ. Further evidence of the limitations of Activated Partial Thromboplastin Time to monitor Argatroban. *Br J Haematol.* October 2016. doi:10.1111/bjh.14397.
  97. Guy S, Kitchen S, Maclean R, Van Veen JJ. Limitation of the activated partial thromboplastin time as a monitoring method of the direct thrombin inhibitor argatroban. *Int J Lab Hematol.* 2015;37(6):834-843. doi:10.1111/ijlh.12414.
  98. Linkins L-A, Warkentin TE. Heparin-induced thrombocytopenia: real-world issues. *Semin Thromb Hemost.* 2011;37(6):653-663. doi:10.1055/s-0031-1291375.
  99. Schaden E, Schober A, Hacker S, Kozek-Langenecker S. Ecarin modified rotational thrombelastometry: a point-of-care applicable alternative to monitor the direct thrombin inhibitor argatroban. *Wien Klin Wochenschr.* 2013;125(5-6):156-159. doi:10.1007/s00508-013-0327-1.
  100. Pentapharm GmbH. Packungsbeilage eca-TEM(R), Version 0001, englisch, 2004-11.
  101. Warkentin TE, Greinacher A, Craven S, Dewar L, Sheppard J-AI, Ofori FA. Differences in the clinically effective molar concentrations of four direct thrombin inhibitors explain their variable prothrombin time prolongation. *Thromb Haemost.* October 2005. doi:10.1160/TH05-03-0154.
  102. Love JE, Ferrell C, Chandler WL. Monitoring direct thrombin inhibitors with a plasma diluted thrombin time. *Thromb Haemost.* June 2007. doi:10.1160/TH06-10-0607.
  103. Warkentin TE, Greinacher A. Management of heparin-induced thrombocytopenia: *Curr Opin Hematol.* 2016;23(5):462-470. doi:10.1097/MOH.0000000000000273.
  104. Madlener K, Pötzsch B. Hämostaseologie. In: *Dörner K. Taschenlehrbuch Klinische Chemie Und Hämatologie.* 8th ed. Stuttgart, Thieme; 2013. 374
  105. HEMOCLOT Beipackzettel. <http://www.coachrom.com/fileadmin/docs/hbm/de/CK002K.pdf>. Accessed September 8, 2016.
  106. Tardy-Poncet B, Nguyen P, Thiranos J-C, et al. Argatroban in the management of heparin-induced thrombocytopenia: a multicenter clinical trial. *Crit Care.* 2015;19(1):396. doi:10.1186/s13054-015-1109-0.
  107. Lang T, Bauters A, Braun SL, et al. Multi-centre investigation on reference ranges for ROTEM thromboelastometry. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2005;16(4):301-310.
  108. Davenport R, Manson J, De'Ath H, et al. Functional Definition and Characterisation of Acute Traumatic Coagulopathy. *Crit Care Med.* 2011;39(12):2652. doi:10.1097/CCM.0b013e3182281af5.
  109. Haas T, Spielmann N, Mauch J, Speer O, Schmutz M, Weiss M. Reproducibility of thrombelastometry (ROTEM®): point-of-care versus hospital laboratory performance. *Scand J Clin Lab Invest.* 2012;72(4):313-317. doi:10.3109/00365513.2012.665474.

110. Haas T, Spielmann N, Mauch J, et al. Comparison of thromboelastometry (ROTEM<sup>®</sup>) with standard plasmatic coagulation testing in paediatric surgery. *Br J Anaesth*. 2012;108(1):36-41. doi:10.1093/bja/aer342.
111. Veigas PV, Callum J, Rizoli S, Nascimento B, da Luz LT. A systematic review on the rotational thrombelastometry (ROTEM<sup>®</sup>) values for the diagnosis of coagulopathy, prediction and guidance of blood transfusion and prediction of mortality in trauma patients. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med*. 2016;24(1). doi:10.1186/s13049-016-0308-2.
112. Laine A, Niemi T, Suojaranta-Ylinen R, et al. Decreased maximum clot firmness in rotational thromboelastometry (ROTEM<sup>®</sup>) is associated with bleeding during extracorporeal mechanical circulatory support. *Perfusion*. 2016;31(8):625–633.
113. Lison S, Weiss G, Spannagl M, Heindl B. Postoperative changes in procoagulant factors after major surgery. *Blood Coagul Fibrinolysis April 2011*. 2011;22(3):190-196. doi:10.1097/MBC.0b013e328343f7be.
114. Williamson DR, Boulanger I, Tardif M, Albert M, Grégoire G. Argatroban Dosing in Intensive Care Patients with Acute Renal Failure and Liver Dysfunction. *Pharmacother J Hum Pharmacol Drug Ther*. 2004;24(3):409–414. doi:10.1592/phco.24.4.409.33168.

## 6 Anhang

### Zu 2.2 ROTEM®-Tests

Zusammensetzung der Reagenzien:

**in-tem®-Reagenz:** Partielles Thromboplastin-Phospholipid aus Kaninchenhirn (Chloroform-Extrakt), Ellagsäure, Puffersubstanz, Konservierungsmittel

**ex-tem®-Reagenz:** Rekombinanter *tissue factor* und Phospholipide, Heparin-Inhibitor, Konservierungsmittel und Puffersubstanz

**fib-tem®-Reagenz:** Cytochalasin D / DMSO Lösung 0,2 mol/l CaCl<sub>2</sub> in HEPES Puffersubstanz pH 7,4, Konservierungsmittel

**star-tem®-Reagenz:** Zusammensetzung: 0,2 mol/l CaCl<sub>2</sub> in HEPES Puffersubstanz pH 7,4 und 0,1 % Natriumazid

Für die einzelnen standardisierten ROTEM®-Tests wurden folgende Einwegmaterialien und Substanzen vom Hersteller verwendet:

**INTEM:** 300 µl Citratblut + 20 µl in-tem®-Reagenz + 20 µl star-tem®-Reagenz (als Rekalzifikator), Küvette (Cup) + Sensorstempel (Pin) = eine Messzelle, Spitzen für die automatische Pipette

**EXTEM:** 300 µl Citratblut + 20 µl ex-tem®-Reagenz + 20 µl star-tem®-Reagenz (als Rekalzifikator), Küvette (Cup) + Sensorstempel (Pin) = eine Messzelle, Spitzen für die automatische Pipette

**FIBTEM:** 300 µl Citratblut + 20 µl fib-tem®-Reagenz + 20 µl ex-tem®-Reagenz (als Rekalzifikator), Küvette (Cup) + Sensorstempel (Pin) = eine Messzelle, Spitzen für die automatische Pipette

### Zu 3.2 Die Plasmaspiegel der direkten Thrombininhibitoren

Auch nach Herausnahme der Ausreißer und Extremwerte (U=788,5; z=-3,78, p<0,001) verblieb weiterhin ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen.

### Zu 3.3.1 Verlauf der aPTT

Rechnet man die beiden Extremwerte in der Argatroban-Gruppe heraus ergeben sich weiterhin signifikante Werte für die Zeitpunkte Baseline zu 24h mit einem  $p=0,002$  und für Baseline zu 48h mit einem  $p=0,011$ . In der Lepirudin-Gruppe ergibt sich nach Entfernen des Extremwertes ebenfalls ein weiterhin signifikanter Wert mit  $p=0,002$  für den Zeitpunkt Baseline zu 72h. Vergleiche nach Entfernen der Ausreißer und Extremwerte sind in Tabelle 12 aufgeführt.

|  | Zeitpunkt              | U     | z     | p      |
|--|------------------------|-------|-------|--------|
| Vergleich zwischen<br>der Argatroban- und Lepirudin-Gruppe | 12 Stunden             | 130   | -0,48 | 0,67   |
|  | 24 Stunden             | 111   | -0,24 | 0,83   |
|  | 48 Stunden             | 89    | -1,23 | 0,23   |
|  | 72 Stunden             | 78,5  | -0,31 | 0,76   |
| Vergleich innerhalb der Argatroban-Gruppe                  | Baseline zu 12 Stunden | n. z. | -2,64 | 0,008* |
|  | Baseline zu 24 Stunden | n. z. | -2,76 | 0,006* |
|  | Baseline zu 48 Stunden | n. z. | -2,56 | 0,011* |
|  | Baseline zu 48 Stunden | n. z. | -3,26 | 0,001* |
|  | Baseline zu 72 Stunden | n. z. | -3,18 | 0,001* |

**Tabelle 12: Vergleich der aPTT-Werte zwischen und innerhalb der Gruppen ohne Ausreißer und Extremwerte**

### Zu 3.3.2 Dauer bis zum Start der Gerinnselbildung: INTEM CT

Vergleiche nach Entfernen der Ausreißer und Extremwerte sind in Tabelle 13 aufgeführt.

|  | Zeitpunkt              | U     | z     | p       |
|--|------------------------|-------|-------|---------|
| Vergleich zwischen<br>der Argatroban- und Lepirudin-Gruppe | Baseline               | 106,5 | -0,53 | 0,6     |
|  | 24 Stunden             | 40    | -3,46 | <0,001* |
|  | 48 Stunden             | 20    | -3,57 | <0,001* |
|  | 72 Stunden             | 22,5  | -2,05 | 0,038   |
| Vergleich innerhalb der Argatroban-Gruppe                  | Baseline zu 12 Stunden | n. z. | -3,11 | 0,002*  |
|  | Baseline zu 24 Stunden | n. z. | -3,47 | 0,001*  |
|  | Baseline zu 48 Stunden | n. z. | -3,06 | 0,002*  |
|  | Baseline zu 72 Stunden | n. z. | -2,7  | 0,007*  |
| Vergleich innerhalb der Lepirudin-Gruppe                   | Baseline zu 12 Stunden | n. z. | -2,61 | 0,009   |
|  | Baseline zu 24 Stunden | n. z. | -2,31 | 0,021   |
|  | Baseline zu 48 Stunden | n. z. | -2,2  | 0,028   |
|  | Baseline zu 72 Stunden | n. z. | -2,52 | 0,012   |

**Tabelle 13: Vergleich der INTEM CT zwischen und innerhalb der Gruppen ohne Ausreißer und Extremwerte**

### Zu 3.3.3 Korrelationen der aPTT, INTEM CT und deren *ratios* mit den Plasmaspiegeln von Argatroban

INTEM CT und Argatroban-Konzentration: Ohne die dazugehörigen zwei Ausreißer (Plasmaspiegel 0,11 µg/ml) zeigte sich hier eine stärkere Korrelation ( $r_s=0,67$ ,  $p<0,001$ ;  $n=50$ ,  $p<0,01$  galt als statistisch signifikant).

Ohne die zwei Ausreißer ergab sich bei der aPTT *ratio* weiterhin keine Korrelation mit dem Argatroban-Plasmaspiegel ( $r_s=0,2$ ;  $p=0,18$ ;  $n=48$ ).

Nach Herausrechnen der zwei Ausreißer in der Argatroban-Gruppe zeigte sich eine noch stärkere Korrelation zwischen INTEM CT *ratio* und Argatroban-Plasmaspiegel ( $r_s=0,69$ ;  $p<0,001$ ;  $n=50$ ).

### Zu 3.4.1 Verlauf des Quick-Wertes

Vergleiche nach Entfernen der Ausreißer sind in Tabelle 14 aufgeführt.

|   | Zeitpunkt              | U     | z     | p       |
|---|------------------------|-------|-------|---------|
| Vergleich zwischen der Argatroban- und Lepirudin-Gruppe | Baseline               | 130   | -0,5  | 0,63    |
|   | 12 Stunden             | 53    | -3,14 | <0,001* |
|   | 72 Stunden             | 18    | -3,51 | <0,001* |
| Vergleich innerhalb der Argatroban-Gruppe               | Baseline zu 12 Stunden | n. z. | -3,15 | 0,002*  |
|   | Baseline zu 12 Stunden | n. z. | -2,27 | 0,023   |
| Vergleich innerhalb der Lepirudin-Gruppe                | Baseline zu 24 Stunden | n. z. | -2,74 | 0,006   |
|   | Baseline zu 48 Stunden | n. z. | -2,22 | 0,026   |
|   | Baseline zu 72 Stunden | n. z. | -1,53 | 0,13    |
|   | Baseline zu 72 Stunden | n. z. | -1,53 | 0,13    |

Tabelle 14: Vergleich des Quick-Wertes zwischen und innerhalb der Gruppen ohne Ausreißer

### Zu 3.4.2 Dauer bis zum Start der Gerinnelbildung: EXTEM CT

Vergleiche nach Entfernen der Ausreißer sind in Tabelle 15 aufgeführt.

|   | Zeitpunkt              | U     | z     | p      |
|---|------------------------|-------|-------|--------|
| Vergleich zwischen der Argatroban- und Lepirudin-Gruppe | Baseline               | 101,5 | -0,98 | 0,33   |
|   | 72 Stunden             | 23,5  | -2,78 | 0,004* |
| Vergleich innerhalb der Argatroban-Gruppe               | Baseline zu 12 Stunden | n. z. | -3,06 | 0,002* |
|   | Baseline zu 24 Stunden | n. z. | -3,3  | 0,001* |
|   | Baseline zu 48 Stunden | n. z. | -2,94 | 0,003* |
|   | Baseline zu 72 Stunden | n. z. | -2,81 | 0,005* |
| Vergleich innerhalb der Lepirudin-Gruppe                | Baseline zu 12 Stunden | n. z. | -3,16 | 0,002* |
|   | Baseline zu 24 Stunden | n. z. | -2,38 | 0,017  |
|   | Baseline zu 48 Stunden | n. z. | -2,64 | 0,008* |
|   | Baseline zu 72 Stunden | n. z. | -2,45 | 0,014  |

Tabelle 15: Vergleich der EXTEM CT zwischen und innerhalb der Gruppen ohne Ausreißer

### Zu 3.5.1 Verlauf der Thrombinzeit

Nach Entfernen der Extremwerte blieb der Baseline-Vergleich nicht signifikant unterschiedlich (siehe Tabelle 16).

Nach Entfernen der Ausreißer blieben die Werte signifikant unterschiedlich (siehe Tabelle 16).

|  | Zeitpunkt              | U     | z     | p      |
|--|------------------------|-------|-------|--------|
| <b>Vergleich zwischen der Argatroban- und Lepirudin-Gruppe</b> | Baseline               | 93    | -0,53 | 0,62   |
| <b>Vergleich innerhalb der Argatroban-Gruppe</b>               | Baseline zu 12 Stunden | n. z. | -3,11 | 0,002* |
|  | Baseline zu 24 Stunden | n. z. | -3,23 | 0,001* |
|  | Baseline zu 48 Stunden | n. z. | -2,82 | 0,005* |
|  | Baseline zu 72 Stunden | n. z. | -2,8  | 0,005* |
| <b>Vergleich innerhalb der Lepirudin-Gruppe</b>                | Baseline zu 12 Stunden | n. z. | -3,3  | 0,001* |
|  | Baseline zu 24 Stunden | n. z. | -3,41 | 0,001* |
|  | Baseline zu 48 Stunden | n. z. | -3,23 | 0,001* |
|  | Baseline zu 72 Stunden | n. z. | -3,3  | 0,001* |

**Tabelle 16: Vergleich der TZ-Werte zwischen und innerhalb der Gruppen nach Entfernen der Ausreißer**

### Zu 3.5.2 Abb. 18 TZ

Ohne den einen Ausreißer ergibt sich für die TZ mit dem Argatroban-Plasmaspiegel eine Korrelation von  $r_s=0,852$ ;  $p<0,001$ ;  $n=48$ .

### Zu 3.7 Analyse der maximalen Gerinnselfestigkeit MCF

Vergleiche nach Entfernen der Ausreißer und Extremwerte sind in Tabelle 17 aufgeführt.

a) FIBTEM MCF ohne Ausreißer und Extremwerte

|  | Zeitpunkt              | U     | z     | p     |
|--|------------------------|-------|-------|-------|
| <b>Vergleich zwischen<br/>der Argatroban- und Lepirudin-Gruppe</b> | Baseline               | 120   | -0,28 | 0,79  |
|  | 12 Stunden             | 72,5  | -0,52 | 0,61  |
|  | 24 Stunden             | 64,5  | -2,34 | 0,018 |
|  | 48 Stunden             | 61,5  | -1,31 | 0,2   |
| <b>Vergleich innerhalb der Argatroban-Gruppe</b>                   | Baseline zu 12 Stunden | n. z. | -2,39 | 0,017 |
|  | Baseline zu 24 Stunden | n. z. | -0,36 | 0,72  |
|  | Baseline zu 48 Stunden | n. z. | -0,56 | 0,57  |
| <b>Vergleich innerhalb der Lepirudin-Gruppe</b>                    | Baseline zu 12 Stunden | n. z. | -0,4  | 0,69  |
|  | Baseline zu 48 Stunden | n. z. | -1,86 | 0,06  |
|  | Baseline zu 72 Stunden | n. z. | -0,59 | 0,56  |

b) EXTEM MCF ohne Ausreißer und Extremwert

|  | Zeitpunkt              | U     | z     | p      |
|--|------------------------|-------|-------|--------|
| <b>Vergleich zwischen<br/>der Argatroban- und Lepirudin-Gruppe</b> | 48 Stunden             | 79,5  | -0,42 | 0,68   |
| <b>Vergleich innerhalb der Argatroban-Gruppe</b>                   | Baseline zu 48 Stunden | n. z. | -2,67 | 0,008* |

c) INTEM MCF ohne Ausreißer und Extremwerte

|   | Zeitpunkt              | U     | z     | p      |
|---|------------------------|-------|-------|--------|
| <b>Vergleich zwischen der Argatroban- und Lepirudin-<br/>Gruppe</b> | 24 Stunden             | 119,5 | -0,32 | 0,75   |
|   | 48 Stunden             | 89    | -0,05 | 0,98   |
|   | 72 Stunden             | 51    | -0,6  | 0,58   |
| <b>Vergleich innerhalb der Argatroban-Gruppe</b>                    | Baseline zu 24 Stunden | n. z. | -2,4  | 0,016  |
|   | Baseline zu 48 Stunden | n. z. | -2,69 | 0,007* |
|   | Baseline zu 72 Stunden | n. z. | -2,14 | 0,03   |
| <b>Vergleich innerhalb der Lepirudin-Gruppe</b>                     | Baseline zu 24 Stunden | n. z. | -0,03 | 0,98   |
|   | Baseline zu 48 Stunden | n. z. | -0,35 | 0,73   |
|   | Baseline zu 72 Stunden | n. z. | -0,31 | 0,76   |

**Tabelle 17: Vergleiche der MCF zwischen und innerhalb der Gruppen**

## Danksagung

Meinem Doktorvater, Priv.-Doz. Dr. Martin Beiderlinden, möchte ich für die Überlassung des Themas und für die Revisionen sowie die vielen wertvollen Kommentare herzlich danken.

Ganz besonderer Dank gilt Priv.-Doz. Dr. Tanja Meyer-Treschan für das Vertrauen und die Auswahl als Doktorand für die ALicia-Studie sowie für die Überlassung des Themas, die vielen konstruktiven Treffen und E-Mails, die Geduld und die Begleitung bis zur Fertigstellung der Dissertation.

Weiterhin bedanke ich mich herzlichst bei Jeannette Bergmann für die Geduld beim Korrekturlesen und Formatieren der Arbeit.

Den anderen Doktoranden und Mitarbeitern des ALicia-Projekts, „Team A“ und „Team B“, Astrid Bahlmann, Tobias Brezina, Johann Kemper, Maximilian Schäfer sowie der Study Nurse Renate Babian, bin ich zu großem Dank verpflichtet.

Ohne das Personal der CIA/CIB im ZOM-I wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen, deshalb gilt mein besonderer Dank auch den Gesundheits- und Krankenpflegerinnen, den Gesundheits- und Krankenpflegern, den (Prüf)-Ärztinnen und Ärzten, den Oberärztinnen und Oberärzten sowie auch besonders dem Ärztlichen Leiter der operativen Intensivstation CIA/CIB, Prof. Dr. Detlef Kindgen-Milles.

Herrn Univ.-Prof. Dr. Benedikt Pannen danke ich für die Ermöglichung der Promotionsarbeit in seiner Klinik.