

## **Neue orale Antikoagulanzen: Wann und wie sollen wir die gerinnungshemmende Wirkung messen?**

JOB HARENBERG, SANDRA KRÄMER, SHANSHAN DU, ASTRID SCHULZE, CHRISTEL WEISS, ROLAND KRÄMER<sup>4</sup>, RUPRECHT-KARLS-UNIVERSITY HEIDELBERG, GERMANY

*Die direkten Inhibitoren der Gerinnungsfaktoren Thrombin, wie Dabigatran, und Faktor Xa, wie Rivaroxaban und Apixaban, verhindern bei Einnahme festgelegter Dosen effektiv thromboembolische Komplikationen ohne die Notwendigkeit einer Dosisanpassung in Anhängigkeit von Laborergebnissen.*

*Die Ausscheidung erfolgt für Dabigatran zu etwa 80%, für Rivaroxaban zu etwa 35% und für Apixaban zu etwa 25% durch glomeruläre Filtration. Eine Einschränkung der Nierenfunktion spielt daher eine relevante Rolle im Metabolismus dieser neuen oralen Antikoagulanzen (NOAKs). In klinischen Notfallsituationen ist es erforderlich, über die Anwesenheit der Substanzen im Blut schnell Informationen zu erhalten. Die schnelle Ausscheidung über die Nieren kann man sich zu Nutze machen, um Point-of-Care(POC)-Methoden zu entwickeln.*

*Solche Testmethoden können für bestimmte Patientengruppen sehr nützlich sein, beispielsweise für jene mit akuter Verschlechterung der Nierenfunktion aufgrund einer Krankheit, vor chirurgischen Eingriffen, während unerwarteter Blutungsereignisse und unerwarteter Schwangerschaft, bei Verdacht auf Überdosierung und Vergiftung sowie zur Überwachung der Mitarbeit von Patienten unter Therapie. Im Folgenden beschreiben wir die Ergebnisse einer qualitativen POC-Testmethode durch Verwendung von Urinproben einiger Patienten unter Therapie mit Rivaroxaban und Dabigatran.*

## Neue orale Antikoagulanzen

Einschränkungen der konventionellen Behandlungsweise zur Vorbeugung von venösen Thrombosen mit niedermolekularem Heparin sind gegeben beim Vorliegen von Hämatomen, Allergien, Heparin-induzierter Thrombozytopenie (HIT) Typ I und II, gravierendem Anstieg der Leberenzyme sowie die Voraussetzung der parenteralen Verabreichung (1).

Antikoagulation bei Patienten mit Vorhofflimmern, die Vitamin K Antagonisten einnehmen, verringert das Auftreten ischämischer Schlaganfälle und systemischer Embolien sowie der Sterblichkeit, jedoch kann es zum Auftreten schwerer Blutungskomplikationen bis hin zu Hirnblutungen kommen (2). Des Weiteren ist bei Einnahme von VKAs eine regelmäßige Überwachung der Blutgerinnung mit Dosisanpassung nötig, um die INR-Werte zwischen 2 und 3

zu halten (3, 4). Eine gleichzeitige Gabe von niedermolekularem oder unfraktioniertem Heparin bei Einleitung sowie beim Absetzen der Antikoagulation ist aufgrund einiger Nahrungsmittel- und Medikamentenwechselwirkungen und des langsamen Wirkungseintritts und –endes erforderlich. Um die meisten dieser Nachteile zu vermeiden und um die Patientenbetreuung zu verbessern wurden die NOAKs entwickelt (5).

Der orale direkte FIIa-Hemmer Dabigatran und die oralen direkten FXa-Hemmer Rivaroxaban und Apixaban wurden zur Prophylaxe von tiefen Venenthrombosen nach elektivem chirurgischen Knie- oder Hüftgelenkersatz zugelassen. Dabigatran und Rivaroxaban erhielten des Weiteren die Zulassung zur Vorbeugung von Embolien bei Patienten mit Vorhofflimmern, Rivaroxaban zusätzlich noch zur Behandlung der akuten tiefen Venenthrombose und zur Prä-

vention der rezidivierend auftretenden tiefen Venenthrombose und Lungenembolie.

Für einige der NOAKs bestehen Dosisunterschiede zwischen der Zulassung durch die Food and Drug Administration (FDA) und die European Medicinal Agency (EMA). Zustimmungen für weitere Indikationsbereiche stehen noch bevor.

Einer der Vorteile der NOAKs ist die Einnahme fester Tagesdosen ohne Notwendigkeit einer regelmäßigen Überwachung der Gerinnungswerte (<sup>6</sup>). Jedoch gibt es bestimmte klinische Situationen, in denen es nötig ist die aktuell vorhandene Menge an Antikoagulans im Organismus eines Patienten zu ermitteln. Die Bestimmung des gerinnungshemmenden Effekts kann besonders für Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion, für alte Menschen, im Falle von Blu-

tungskomplikationen und in akuten klinischen Situationen oder zur Überprüfung der Patientenmitarbeit wichtig sein (<sup>7, 8</sup>). Die Konzentration von NOAKs kann mittels chromatografischer Methoden bestimmt werden. Prüfverfahren mittels chromogenem Substrat sowie FXA- und Thrombin-abhängige Gerinnungstests wurden zur Bestimmung der Konzentration bzw. Aktivität von Rivaroxaban und Dabigatran entwickelt (<sup>9, 10</sup>). Für klinische Routineuntersuchungen sind diese Techniken ungeeignet, jedoch wurden Point-of-care-Methoden zur Messung der NOAKs bisher noch nicht beschrieben.

Dabigatran wird zu ca. 80% über den Urin ausgeschieden (<sup>11</sup>), Rivaroxaban zu 66%, 30% davon als aktive Form (<sup>12</sup>).

Die glomeruläre Filtration dieser kleinmolekularen Substanzen erfolgt schnell, ohne weitere renale Metabolisierung. Die im Urin vorhandene Menge an Substanz entspricht daher der Menge im Blut. Wenn im Blut keine Substanz vorhanden ist, findet sich auch keine im Urin. Einzige Einschränkung ist nur die Zeitdifferenz zwischen dem Zeitpunkt, zu dem die Substanz nicht mehr im Blut ist, und jenem der Urinsammlung. Eine Messung der neuen oralen Gerinnungshemmer im Urin könnte daher bei entsprechender Technik eine einfache und schnelle Bestimmung ermöglichen. Entsprechende Methoden haben wir als POC-Techniken entwickelt (<sup>13</sup>, <sup>14</sup>). Wir fassen im Folgenden die bisher vorliegenden Ergebnisse zusammen (<sup>15</sup>).

Die unmittelbare glomeruläre Filtration sowie Ausscheidung über den Urin bei Vorhandensein von NOAKs im Blut liegt der Entwicklung von

Point-of-Care-Tests im Urin zugrunde.

### **Methoden**

Das Testprinzip basiert auf der Entwicklung verschiedener Farbausschläge je nach Vorhandensein oder Abwesenheit von oralen direkten Thrombin- und FXa-Hemmern. Die Einzelheiten zu den Methoden sind in den entsprechenden Patenten beschrieben.

Zur Durchführung eines POC-Tests ist es wichtig, dass das Ergebnis mit bloßem Auge richtig erkannt wird. Bei der Farbbestimmung sollten keine Fehler auftreten. Dies wurde bei der Entwicklung des Testverfahrens berücksichtigt. Der Kontrast zwischen den Farben für positive und negative Ergebnisse wurde hoch genug gewählt, um eine eindeutige Aussage über das Vorhandensein oder Nicht-Vorhandensein des jewei-

ligen oralen Gerinnungshemmern vornehmen zu können. Bei der Entwicklung der Tests wurde zudem darauf geachtet, eine Verwechslung der beiden Substanzklassen zu vermeiden. Für Thrombinhemmer (positiv: blau, negativ: grün) und FXa-Hemmer (positiv: farblos, negativ: gelb) wurden daher unterschiedliche Farben entwickelt.

Zur Untersuchung von Dabigatran werden kleine Teststäbchen, die zuvor mit bestimmten Reagenzien beschichtet wurden für kurze Zeit in Patientenurin getaucht und anschließend in ein Röhrchen mit blauer Flüssigkeit befördert. Nach 15 Minuten lässt sich ein Farbumschlag ins Grüne beobachten für den Fall, dass im Urin kein Dabigatran vorhanden ist.

Beim Testverfahren für Rivaroxaban ist die im Röhrchen befindliche Lö-

sung zunächst farblos und wird bei Abwesenheit von Rivaroxaban nach 15 Minuten gelb. Falls der orale FXa-Hemmer jedoch vorhanden, ist bleibt ein Farbumschlag der klaren Flüssigkeit aus.

Urin- und Plasmaproben von Patienten mit nicht atrikulärem Vorhofflimmern, die zwei Stunden zuvor 110 mg oder 150 mg Dabigatran erhielten (n=112), sowie von Gesunden (n=144) wurden nach schriftlicher Einverständnis entnommen.

Kontrollurinproben wurden von Patienten für Knie- oder Hüftersatzoperationen vor Einnahme von Rivaroxaban gesammelt.

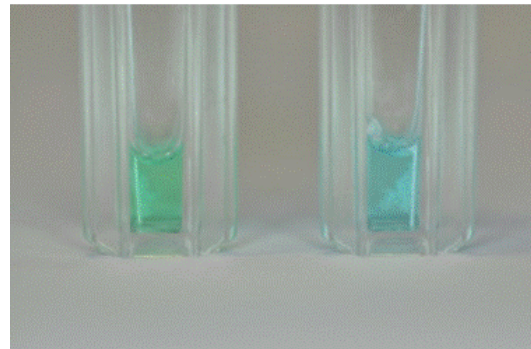
Eine zweite Probe aller Studienteilnehmer wurde 12 Stunden nach abendlicher Tages-Einnahme von 10 mg Rivaroxaban gewonnen (Einnahmedauer: vier bis sechs Tage).

Der Kontrollurin sowie die Proben des Dabigatran- und Rivaroxaban-Kollektivs wurden bei 1.800 x g und 4°C zentrifugiert, schockgefrostet, und bei -72° bis zum Gebrauch aufbewahrt.

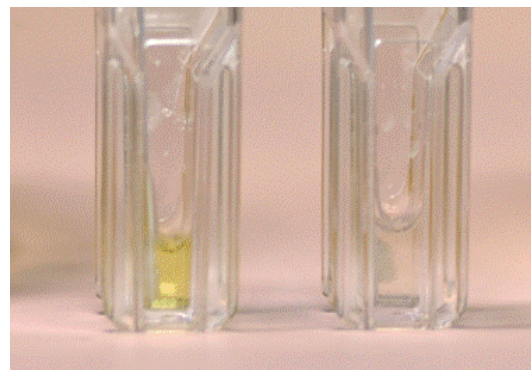
Später wurden die Urinproben aufgetaut und mit den hergestellten Teststäbchen inkubiert, bis nach 15 Minuten die Farbe abgelesen werden konnte. Die Ergebnisse wurden mit positiv oder negativ bewertet und der Youden-Index wurde für die Ergebnisse des Farbablesens durch 3 unabhängige Personen berechnet (Youden-Index = Sensitivität + Spezifität - 1) <sup>(16)</sup>.

## Ergebnisse

Die Testergebnisse der Untersuchungen mit Dabigatran und Rivaroxaban sind in Abbildungen 1 und 2 dargestellt.



**Abbildung. 1: Ergebnis des POC-Tests mit Urin eines Patienten ohne Gerinnungshemmer (links, grün) und dem eines Patienten unter Dabigatran-Therapie (rechts, blau).**



**Abbildung 2: Ergebnis des POC-Tests mit Urin eines Patienten ohne Gerinnungshemmer (links, gelb) und dem eines Patienten unter Rivaroxaban-Therapie (rechts, farblos)**

**Dabigatran:** Bei Verwendung des POC-Tests für Dabigatran im Urin zeigte sich für 144 von 144 Kontrollpersonen ein negatives Ergebnis

(Tab. 1). Die Messung der optischen Dichte ergab  $0,803 \pm 0,116$  OD-Einheiten.

**Tabelle 1: Dabigatran in Urin (aus 15)**

	Kontrolle	Während Therapie
positiv: blau (n)	0	110
	falsch positiv	korrekt positiv
%	0	100
negativ: grün (n)	112	0
	korrekt negativ	falsch negativ
%	100	0
Summe	112	110

Ergebnisse der Untersuchung mit Dabigatran in Urinproben von Patienten, die keinen Gerinnungshemmer einnahmen (Kontrolle), und solchen die seit vier bis sechs Monaten unter Medikation standen. Die Urinentnahme erfolgte zwei Stunden nach Einnahme von 2 x 110 mg oder 2 x 150 mg täglich (von den Patienten unter Therapie waren nur 110 Proben verfügbar). Die Daten wurden je nach vom Beurteiler abgelesener Farbe als positiv bzw. negativ eingestuft.

**Tabelle 2: Rivaroxaban in Urin (aus Literatur 15)**

	Kontrolle	Während Behandlung
positiv: farblos (n)	0	121
%	falsch positiv 0	korrekt positiv 96.8
negativ: gelb (n)	117	4
%	korrekt negativ 100	falsch negativ 3.2
Summe	117	125

Ergebnisse der Untersuchung von Rivaroxaban in Urinproben von Patienten die keinen Gerinnungshemmer einnahmen (Kontrolle) und solchen, die seit 4-6 Tagen unter Medikation standen. Die Urinentnahme erfolgte 12 Stunden nach Einnahme von 10mg Rivaroxaban (von den Patienten ohne Gerinnungshemmer waren nur 117 verfügbar). Die Daten wurden je nach Farbe, die mit dem Auge ablesbar war, als positiv bzw. negativ eingestuft.



Während Therapie mit Dabigatran ließ sich bei 110 von 110 Patienten ein positiver Farbttest feststellen. Dies ergab eine optische Dichte von  $0,219 \pm 0,161$ . Daraus resultierte eine Spezifität, Sensitivität und Genauigkeit von jeweils 100%, der Youden-Index betrug 1.

**Rivaroxaban:** Die Durchführung des POC-Tests für Rivaroxaban im Urin ergab für die Kontrollgruppe ein negatives Ergebnis für 117 von 117 Patienten mit einer zugehörigen optischen Dichte von  $1,23 \pm 0,14$  OD-Einheiten (Tab. 2). Unter Rivaroxaban-Therapie zeigten vier von 125 Patienten ein falsch negatives Ergebnis (optische Dichte  $1,21 \pm 0,02$ ), bei den restlichen 121 Patienten war das Ergebnis korrekt positiv (optische Dichte  $0,16 \pm 0,09$ ). Daraus ergaben sich eine Spezifität von 100% und eine Sensitivität von 96,8%. Die Genauigkeit betrug 98,3%, der Youden-Index 96,8%.

## Diskussion

Bestimmte klinische Situationen erfordern die Bestimmung des antikoagulierenden Effekts (Tab. 3). Diese Situationen treten häufiger bei akuten als bei chronischen Leiden

auf. POC-Methoden sind bereits erhältlich und erfolgreich im Gebrauch zur Bestimmung der INR während einer Behandlung mit Vitamin-K-Antagonisten.

**Tabelle 3: klinische Situationen, die das Therapiemonitoring von NOAKs erforderlich machen**

- Vor chirurgischen Eingriffen, Lumbalanästhesie
- Bei einem Krankenhausaufenthalt
- Blutungen / Hämorrhagien
- Thrombotische / embolische Ereignisse
- Indikation einer thrombolytischen Therapie
- Verdacht auf Verschlechterung der Nierenfunktion
- Dehydratation / Hypovolämie
- frisch diagnostizierte Schwangerschaft
- Sehr fortgeschrittenes Alter
- Kinder
- Kontrolle der Patientenmitarbeit
- Verdacht auf Vergiftung
- Forensische Indikationen

Die Ergebnisse der Untersuchungen zeigen, dass POC-Tests für Urinproben von Patienten unter Behandlung mit Dabigatran und Rivaroxaban eine Spezifität von 100% aufweisen. Die Sensitivität und Genauigkeit betragen für Dabigatran 100% und für Rivaroxaban ca. 97%. Die Übereinstimmung ist bedeutend, da die jeweiligen Beurteiler entscheiden müssen, welche Farbe sie mit bloßem Auge erkennen.

Das Testverfahren wurde entwickelt, um eine qualitative Aussage über das Vorhandensein von oralen Gerinnungshemmern zu. Hierfür können positive und negative Ergebnisse mit dem Auge aufgrund der Farbe abgelesen und bestimmt werden. Positive und negative Ergebnisse für Dabigatran lassen sich durch blaue bzw. grüne Farbe der Lösung des POC-Tests feststellen, farblose und gelbe Flüssigkeit sprechen für das Vorhandensein bzw. die Abwesenheit von

Rivaroxaban. Die Übereinstimmung der Farbbeurteilung betrug für Dabigatran 1,0 und für Rivaroxaban 0,97.

Durch POC-Tests werden unmittelbare Testergebnisse bereitgestellt. Diese erlauben eine sofortige Entscheidung bezüglich der Patientenbehandlung.

---

Ein systematischer Rückblick auf POC-Tests von DELANEY und Kollegen deutet zudem darauf hin, dass solche Methoden bei der Betreuung von Patienten mit chronischen Leiden wertvoll sein können<sup>(17)</sup>. Damit wird deutlich, welches Potenzial POC-Methoden für die Behandlung mit den neuen oralen Antikoaganzien Dabigatran, Rivaroxaban und Apixaban aufweisen.

---

Die Vorteile der Methode bestehen darin, dass sie nicht invasiv erfolgt, Ergebnisse innerhalb kürzester Zeit (15 Minuten) verfügbar sind und der Test leicht und auch von den Patienten selbst durchführbar ist.

Die Methode ist sehr sensibel, spezifisch und genau und ermöglicht eine sehr hohe Übereinstimmung unter den ablesenden Personen.

Eine Einschränkung der POC-Methoden stellt der Mangel an Information über die Patientenmitarbeit dar. So könnten beispielsweise Patienten ihre letzte NOAK-Dosis vor Testung der Urinprobe nicht eingenommen haben. Ebenso können pharmakokinetische Daten der Dabigatran- und Rivaroxaban-Ausscheidung in den Urin die Ergebnisse des POC-Tests beeinflussen. Eine weitere Einschränkung bedeuten auch schwere Nierenschäden: Bei

den betroffenen Patienten werden die NOAKs nicht über den Urin ausgeschieden. Die Bewertung der NOAKs im Urin stellt nicht unbedingt die aktuelle Konzentration eines Medikaments dar, sondern vielmehr die Konzentration der letzten Stunden, beispielsweise vor dem zuletzt produzierten Urin. Das kann teilweise für Notärzte von Bedeutung sein, die sich darüber bewusst sein sollten, wie sie die Ergebnisse zu interpretieren haben. Um dieses Problem zu beheben können jedoch in Notfallsituationen schnell und unkompliziert aktuelle Urinproben gewonnen werden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Point-of-Care-Methoden mittels Urinproben von Patienten unter Therapie mit Dabigatran oder Rivaroxaban durch eine hohe Spezifität, Sensitivität und Genauigkeit gekennzeichnet sind. Der POC-Test ist einfach durchführbar, nicht invasiv und

er kann jederzeit wiederholt werden.  
Die Gültigkeit dieser Methode in pathologischen Urinproben und der

tatsächliche Nutzen für den Patienten bleiben noch zu prüfen.

## Literatur

---

<sup>1</sup> Linkins LA, Dans AL, Moores LK, Bona R, Davidson BL, Schulman S, et al. Treatment and Prevention of Heparin-Induced Thrombocytopenia: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. Chest. 2012;141:e495S-530S.

<sup>2</sup> Lip GY, Andreotti F, Fauchier L, Huber K, Hylek E, Knight E, et al. Bleeding risk assessment and management in atrial fibrillation patients. Thromb Haemost 2011;106:997-1011.

<sup>3</sup> Schmitt L, Speckman J, Ansell J. Quality assessment of anticoagulation dose management: comparative evaluation of measures of time-in-therapeutic range. J Thromb Thrombolysis. 2003;15:213-6.

<sup>4</sup> Lader E, Martin N, Cohen G, Meyer M, Reiter P, Dimova A, Parikh D. Warfarin therapeutic monitoring: is 70% time in the therapeutic range the best we can do? J Clin Pharm Ther. 2012;37:375-7.

<sup>5</sup> Harenberg J, Marx S, Krejczy M, Wehling M. New anticoagulants - promising and failed developments. Br J Pharmacol. 2012;165:363-72.

<sup>6</sup> Ten Cate H. Thromb Haemost. 2012;107:803-5. Monitoring new oral anticoagulants, managing thrombosis, or both?

<sup>7</sup> Mismetti P, Laporte S. New oral antithrombotics: a need for laboratory monitoring. J Thromb Haemost 2010;8(4):621-62

<sup>8</sup> Harenberg J, Marx S, Erdle S, Krämer R. Determination of the anticoagulant effects of new oral anticoagulants: an unmet need. *Expert Rev Hematol*. 2012;5:107-13.

<sup>9</sup> Favaloro EJ, Lippi G, Koutts J. Laboratory testing of anticoagulants: the present and the future. *Pathology* 2011;43:682-92.

<sup>10</sup> Favaloro EJ, Lippi G. Laboratory testing and/or monitoring of the new oral anticoagulants/antithrombotics: for and against? *Clin Chem Lab Med* 2011;49:755-7.

<sup>11</sup> Poulsen BK, Grove EL, Husted SE. *Drugs*. 2012;72:1739-53. New oral anticoagulants: a review of the literature with particular emphasis on patients with impaired renal function.

<sup>12</sup> Kubitzka D, Becka M, Mueck W, et al. Effects of renal impairment on the pharmacokinetics, pharmacodynamics and safety of rivaroxaban, an oral, direct Factor Xa inhibitor. *Br J Clin Pharmacol* 2010;70(5):703-712

<sup>13</sup> Harenberg J, Kraemer R: Direct thrombin inhibitors. International Patent No. PCT/EP2012/002540. 2012

<sup>14</sup> Harenberg J, Kraemer R: Direct factor Xa inhibitors. International Patent No. PCT/EP2011/005586. 2011

<sup>15</sup> Harenberg J, Du S, Krämer S, Giese C, Schulze A, Weiss C, Krämer R: Novel methods for assessing oral direct factor Xa and thrombin inhibitors: use of point-of-care testing and urine samples. *Semin Thromb Hemost* 2013, **39**:66-71.

<sup>16</sup> Böhning D, Holling H, Patilea V. A limitation of the diagnostic-odds ratio in determining an optimal cut-off value for a continuous diagnostic test. *Stat Methods Med Res*. 2011;20:541-50.

<sup>17</sup> Delaney BC, Hyde CJ, McManus RJ, Wilson S, Fitzmaurice DA, Jowett S, et al. Systematic review of near patient test evaluations in primary care. BMJ 1999;319:824-7.

Wir danken den Autoren:

Harenberg<sup>1</sup>, Sandra Krämer<sup>1</sup>, Shanshan Du<sup>1</sup>, Astrid Schulze<sup>2</sup>, Christel Weiss<sup>3</sup>, Roland Krämer<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Clinical Pharmacology , <sup>2</sup> Orthopedic and trauma surgery, <sup>3</sup> Biometry and Statistics, Faculty of Medicine Mannheim, Ruprecht-Karls-University Heidelberg, <sup>4</sup> Inorganic Chemistry Institute, Ruprecht-Karls-University Heidelberg, Germany

### **Korrespondenz**

Prof. Dr. med. Job Harenberg,  
Klinische Pharmakologie  
Medizinische Fakultät Mannheim  
Ruprecht-Karls Universität Heidelberg  
Maybachstr. 14  
68169 Mannheim  
Germany  
Phone: +49 621 383 9623



Fax: +49 621 383 9622

Email: [job.harenberg@medma.uni-heidelberg.de](mailto:job.harenberg@medma.uni-heidelberg.de)