

Aus dem Fachbereich Medizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

aus dem
Zentrum der Inneren Medizin
Medizinische Klinik 3
Direktor: Prof. Dr. David M. Leistner

betreut am
Inselspital, Universitätsspital Bern/ Schweiz

**Generierung von HIT Antikörpern im Rahmen orthopädischer
Eingriffe ohne Heparinexposition**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von
Marcus Liebig

aus Eisenach

Frankfurt am Main, 2022

Dekan: Prof. Dr. Stefan Zeuzem
Referent: PD Dr. Marc Schindewolf
Korreferent: Prof. Dr. Stephan Fichtlscherer
ggf. 2. Korreferent/in:
Tag der mündlichen Prüfung: 16.01.2023

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	5
Tabellenverzeichnis.....	8
Abbildungsverzeichnis.....	9
1. Einleitung.....	10
1.1 Heparininduzierte Thrombozytopenie Typ I und Typ II.....	10
1.2 Pathogenese der HIT	11
1.3 Inzidenz der HIT	15
1.4 Die autoimmune HIT (aHIT)	21
1.4.1 Molekulare Mechanismen einer aHIT	22
1.4.2 Spontanes HIT Syndrom	24
1.4.3 Fondaparinuxinduzierte HIT	25
1.5 Klinischer Verlauf einer HIT.....	26
1.6 Klinik.....	27
1.7 Diagnostik der HIT.....	28
1.8 Therapie der HIT	29
1.9 Chemische Struktur und Wirkmechanismus der Heparine	30
1.10 Rivaroxaban	31
1.11 Zielsetzung.....	32
2. Patienten und Methoden.....	33
2.1 Patientenauswahl und Einschlusskriterien	33
2.2 Ausschlusskriterien	33
2.3 Klinische Datenerfassung.....	34
2.4 Bestimmung der HIT-Antikörper.....	34
2.4.1 PF4-Heparin-ELISA	34
2.4.2 Heparininduzierter Plättchenaktivierungstest (HIPA).....	35
2.4.3 Bestimmung der Laborparameter	36
2.4.4 Statistik und Fallzahlberechnung	36
3. Ergebnisse.....	37
3.1 Patientencharakteristika	37
3.2 HIT – assoziierte Analyse.....	44
3.3 Rivaroxabanassoziierte Analyse	49
3.4 Klinische Ergebnisse und Komplikationen.....	53
4. Diskussion	55
5. Zusammenfassung	68

5.1 Englische Zusammenfassung	68
5.2 Deutsche Zusammenfassung.....	69
6. Literaturverzeichnis.....	71
Lebenslauf.....	92
Schriftliche Erklärung	95
Danksagung.....	96

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ACD	Adenin-Citrat-Dextrose
ACS	akutes Koronarsyndrom (engl.: acute coronary syndrome)
aHT	arterielle Hypertonie
AK	Antikörper
aPTT	Aktivierte partielle Thromboplastinzeit
AS	Aminosäure
BE	Blutentnahme
BMI	Body-mass-index
C°	Grad Celsius
COPD	chronisch obstruktive Lungenerkrankung (engl.: Chronic Obstructive Pulmonary Disease)
CRP	C-reaktives Protein
14C-SRA	14C-Serotonin release assay
DIC	Disseminierte intravasale Koagulopathie (engl. : Disseminated Intravascular Coagulopathy)
DRK	Deutsches Rotes Kreuz
dl	Deziliter
DMT	Dynamisch-mechanisch Thromboseprophylaxe
EK	Erythrozythekonzentrat
ELISA	Enzyme – linked immunosorbant assay
f : m	weiblich : männlich (engl.: female : male (Ratio))
g	Gramm
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
g/dl	Gramm pro Deziliter
ggf.	gegebenfalls
Hb	Hämoglobin
HELLP	Hämolyse, erhöhte Leberenzyme, verminderte Thrombozytenzahl (engl.: Haemolysis, Elevated Liver Enzymes Levels, Low Platelet count)

HIPA	Heparin-induzierte Plättchenaktivierungstest (engl.: Heparin-induced platelet activation assay)
HIT	Heparininduzierte Thrombozytopenie
ICU	Intensivstation (engl.: intensive care unit)
I.E.	Internationale Einheit
IgG/M/E	Immunglobuline der Klassen G/M/E
INR	International Normalized Ratio
ISTH	International Society on Thrombosis and Haemostasis
IQR	Interquartilsabstand (engl.: interquartile range)
LAE	Lungenarterienembolie
LPS	Lipopolysaccharid
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmol/l	Millimol pro Liter
n. a.	nicht anwendbar
nl	Nanoliter
NMH	Niedermolekulares Heparin
OA	Osteoarthrose
OD	Optische Dichte
PaGIA	Particle-gel immunoassay
PAT	Plättchenaktivierungstest
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
PF4	Plättchenfaktor 4
präOP	Präoperativ
PRP	Plättchenreiches Plasma
postOP	Postoperativ
RA	Rheumatoide Arthritis
SD	Standardabweichung
SDS	z-score (engl.: standard deviation score)
Tab.	Tabelle
TEP	Totalendoprothese
THA	totale Hüftendoprothetik (engl.: Total Hip Arthroplasty)

TKA	totale Knieendoprothetik (engl.: Total Knee Arthroplasty)
TVT	Tiefe Beinvenenthrombose
u.a.	unter anderem
UFH	Unfraktioniertes Heparin
VTE	Venöse Thromboembolie
z. B.	zum Beispiel
Z. n.	Zustand nach

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 - Inzidenz der HIT Antikörper.....	17
Tabelle 2 - Inzidenzrate symptomatischer TVT von Patienten mit und ohne Serokonversion	21
Tabelle 3 - Syndrome bei autoimmuninduzierter Thrombozythopenie	22
Tabelle 4 - Differentialdiagnosen der Thrombozytopenie	27
Tabelle 5 - Demographische und klinische Charakteristika der Kohorte	38
Tabelle 6 - Primärdiagnose und Komorbiditäten entsprechend orthopädischem Eingriff	39
Tabelle 7 - CRP-Konzentration vor und nach der TEP	41
Tabelle 8 - Leukozytenzahl vor und nach TEP	43
Tabelle 9 - HIT ELISA vor und nach TEP	44
Tabelle 10 - Thrombozytenzahl vor und nach einer Totalendoprothese.....	47
Tabelle 11 - Patienten mit auffälligen HIT-assoziierten Parametern.....	48
Tabelle 12 - GFR und Hämoglobinkonzentration vor und nach einer Totalendoprothese	50
Tabelle 13 - Klinische und serologische Charakteristika von Patienten mit einem Hämoglobinabfall über den 1. post OP Tag hinaus	52
Tabelle 14 - Klinische und serologische Charakteristika der Patientin mit postoperativer TVT	53
Tabelle 15 - Risikofaktoren assoziiert mit heparinunabhängiger Serokonversion	61

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Pathogenese der HIT (aus Warkentin TE,2003) ¹	12
Abbildung 2: Das Schematische "Eisbergmodell" nach Warkentin.....	16
Abbildung 3: Prä-und postoperative CRP-Konzentration..	42
Abbildung 4: Prä- und postoperative Leukozytenzahl.	43
Abbildung 5: PF4/Heparin ELISA	46
Abbildung 6: Prä- und postoperative Thrombozytenzahl.....	47
Abbildung 7: Prä- und postoperative GFR- und Hämoglobinwerte.....	50
Abbildung 8: Hämoglobinwerte nach post-OP Tagen.....	51

1. Einleitung

Die heparininduzierte Thrombozytopenie (HIT) ist eine potentiell lebensbedrohliche, medikamenteninduzierte Erkrankung. Diese kann durch die Gabe des Polysaccharids Heparin ausgelöst werden. Die HIT wird immunologisch vermittelt und beruht auf der Bildung von Antikörpern gegen einen Komplex aus Plättchenfaktor 4 (PF4) mit Heparin². Nach dem aktuellen Stand der Wissenschaft sind zwei Formen der heparininduzierten Thrombozytopenie bekannt. Diese unterscheiden sich deutlich in ihrem klinischen Verlauf, ihrer Relevanz in der Klinik und den ihnen zugrunde liegenden pathophysiologischen Prozessen³.

1.1 Heparininduzierte Thrombozytopenie Typ I und Typ II

Die transitorische, klinisch wenig relevante heparininduzierte Thrombozytopenie Typ I manifestiert sich häufig bereits innerhalb von 2 Tagen nach Beginn der Heparintherapie. Sie beruht auf der direkten, nicht-immunologischen Wechselwirkung zwischen Thrombozyten und Heparin. Sie bewirkt nur einen sehr moderaten Abfall der Thrombozyten (selten < 100/nl) und kommt bei bis zu ca. 20 % der Patienten vor. Sie verläuft in der Regel asymptomatisch und ist auch unter weiterer Heparinexposition reversibel⁴. Die heparininduzierte Thrombozytopenie Typ II (HIT) stellt eine lebensgefährliche Komplikation der Heparintherapie dar und betrifft bis zu 5 % der Patienten, die mit unfraktioniertem Heparin⁵ behandelt werden. Die HIT wird immunologisch vermittelt und beruht auf der Bildung von Antikörpern gegen multimolekulare Komplexe des Plättchenfaktors 4 (PF4) und Heparin². Sie wird bei 0,25–5% der Patienten zwischen dem 5. und dem 14. Tag nach Beginn einer Heparintherapie getriggert und ist durch einen Abfall der Thrombozytenwerte um > 50 % sowie arterielle und venöse thromboembolische Komplikationen gekennzeichnet⁶⁻⁸.

1.2 Pathogenese der HIT

Die HIT ist eine immunologisch vermittelte Reaktion, die zur Bildung von Antikörpern gegen einen Komplex aus Plättchenfaktor 4 (PF4) und Heparin führt, der nach der Exposition von unfraktioniertem Heparin (UFH), niedermolekularem Heparin (NMH) oder anderen Glykosaminoglykanen, z.B. Chondroitinsulfat, gebildet wird. Das polyanionische Heparinmolekül bindet an den positiv geladenen PF4, der in den α -Granula der Thrombozyten gespeichert wird⁸⁻¹¹. Hierdurch kann aufgrund einer Konformationsänderung ein immunogenes Epitop freigelegt werden, gegen das Antikörper gebildet werden⁶. Der Immunkomplex aus PF4/Heparin und IgG-Antikörpern bindet über thrombozytäre Fc γ RIIa Rezeptoren an die Thrombozytenmembran und bewirkt dort eine massive Plättchenaktivierung¹². Damit geht eine weitere Ausschüttung von PF4 und prothrombotischen Mikropartikeln einher, was zu einer weiteren massiven Thrombin- und Thrombozytenaktivierung in der bereits ausgeprägten prokoagulatorischen Situation führt^{4,13}. Die Bildung von Thrombin wird zusätzlich durch PF4/Polyanion-vermittelte Aktivierung von Monozyten und Endothelzellen gefördert. Dies geschieht über polyanionische, heparinähnliche Glykosaminoglykane auf der Membran von Monozyten und Endothelzellen, z. B. Chondroitinsulfat, Hyaluronat und Proteoglykane, die mit PF4 komplexieren und nach einer Immunreaktion mit HIT-Antikörpern zu Endothelläsionen oder Monozytenaktivierung führen¹⁴.

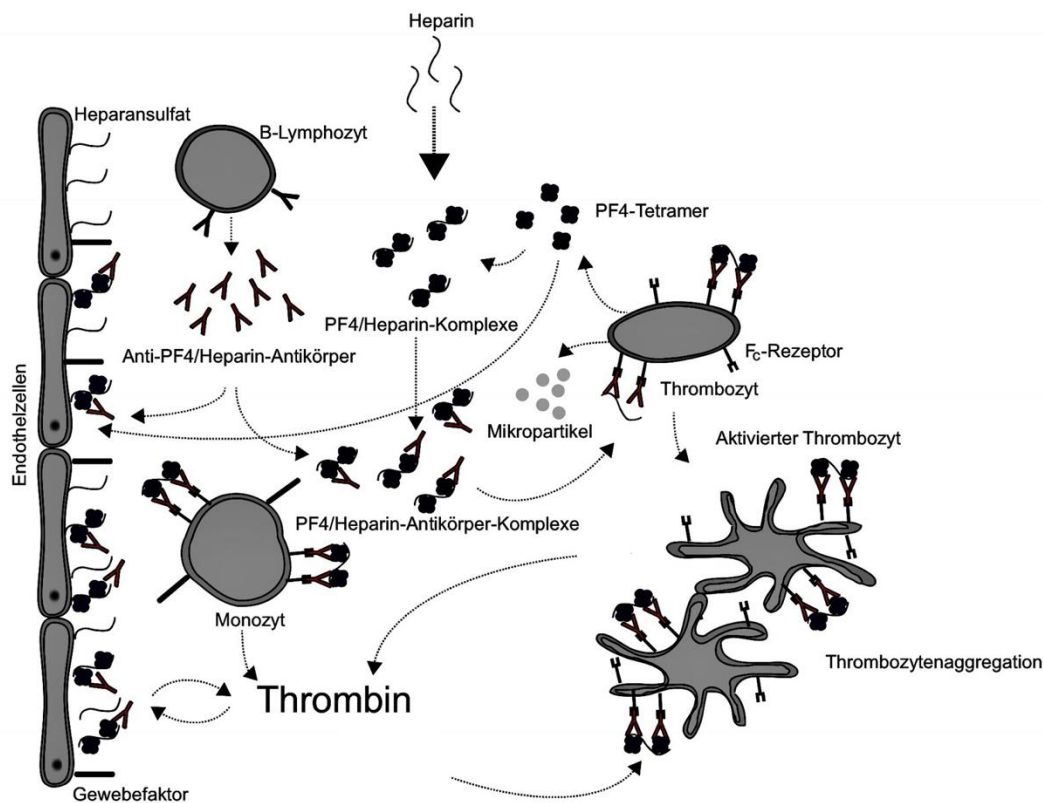


Abbildung 1: Pathogenese der HIT (aus Warkentin TE,2003)¹

HIT-Antikörper lassen sich auch ohne das Vorliegen einer manifesten HIT (Serokonversion) oder einer Heparinexposition nachweisen, vor allem nach orthopädischen oder kardiochirurgischen Eingriffen¹⁵⁻¹⁷ (siehe Abschnitt 1.4). Das CXC-Chemokin PF4 setzt sich aus 70 Aminosäuren (AS) zusammen¹⁸ und besteht aus vier Monomeren, die einen Ring positiver Ladungen tragen, der hauptsächlich auf Lysin basiert. PF4 wird vorwiegend in den Vorläuferzellen der Thrombozyten, den Megakaryozyten, gebildet und in den α -Granula der zirkulierenden Thrombozyten gespeichert¹⁹. Es lagern sich 4 Monomere des Proteins zu einem nicht kovalent gebundenen Tetramer zusammen. Dies ist abhängig von der Konzentration und dem pH Wert²⁰. Grundsätzlich ist die Nähe von mindestens zwei PF4 Tetrameren erforderlich (durch Ladungsneutralisierung), um HIT-Antigene zu bilden²¹. In Studien wurde beobachtet, dass nur Heparinmoleküle mit 10–18 Monosacchariden in der Lage sind, Antigene auf dem PF4-Tetramer im PF4/Heparin-Komplex zu induzieren, die durch anti-PF4/Heparin-Antikörper erkannt werden²²⁻²⁴. Obwohl insgesamt

die immunologischen Charakteristika bei HIT weder den klassischen Mustern einer primären oder sekundären noch denen einer T-Zell-abhängigen oder unabhängigen Immunantwort folgen, ist ein spezifisches Merkmal der HIT-Immunantwort die schnelle Induktion von anti-PF4/Heparin-IgG-Antikörpern, die bereits am 4. Tag nach Heparinexposition auftreten kann und somit einen Indikator für eine sekundäre Immunantwort darstellt²⁵. Dies legt den Verdacht nahe, dass bei HIT-Patienten bereits eine Präimmunisierung gegen Komplexe aus PF4 und heparinähnliche Antigene vor der eigentlichen pharmakologischen Heparinexposition stattgefunden haben könnte. Zudem weisen bereits ca. 4,3–6,6 % der Blutspender, bis zu 21,7 % der Patienten vor kardiochirurgischen Eingriffen und bis zu 6,1 % der Normalpopulation anti-PF4/Heparin-Antikörperpositive Seren auf (Seroprävalenz)^{26,27,28,29,30}. In früheren Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass anti-PF4/Heparin-Antikörper nicht heparinspezifisch sind, sondern auch Komplexe aus PF4 mit anderen Polyanionen erkennen können^{22,31,32}, wie sie auch auf der Oberfläche von Thrombozyten, Monozyten oder Endothelzellen vorkommen^{14,33,34}. Außerdem können anti-PF4/Heparin-Antikörper auch durch Nicht-Heparin-Polyanionen induziert werden, z.B. durch Chondroitinsulfat und/oder RNA/DNA^{35,36,37,38}. Krauel et al. konnten weiterhin nachweisen, dass bakterielle Infektionen, bei denen Thrombozyten aktiviert werden und PF4 ausschütten^{39,40}, die primäre Bildung von anti-PF4/Polyanion-Antikörpern induzieren können²⁹. Die Bindung von kationischem PF4 erfolgt an Polyanionen auf der Oberfläche von gramnegativen oder grampositiven Bakterien²⁹. So konnten beispielsweise negativ geladene Lipopolysaccharide, speziell Phosphatgruppen, im Lipid A auf gram-negativen Bakterien als Interaktionspartner des PF4 nachgewiesen werden⁴¹. Durch die Neutralisierung der positiven Ladung von PF4 durch die Polyanionen kommt es zu einer Konformationsänderungen des PF4-Tetramers, wodurch antigene Epitope im PF4-Tetramer des PF4/Polyanionen-Komplexes freigelegt werden, gegen die Antikörper gebildet werden („PF4/Heparin-like epitopes“)^{21,29,42}. Die Autoren schlussfolgern, dass die Interaktion von PF4 mit Polyanionen auf der Oberfläche der Bakterien eine primäre Immunantwort induziert und dies ursprünglich einen evolutionär konservierten Abwehrmechanismus an der Schnittstelle von angeborener und adaptiver Immunantwort darstellt. In der Folge einer späteren pharmakologischen

Heparinexposition bindet Heparin mit PF4 auf der Oberfläche von Thrombozyten und induziert dort antigene Epitope im PF4-Tetramer, gegen die bei präimmunisierten Patienten anti-PF4/Polyanion-Antikörper kreuzreagieren (antigenes Mimikry) und eine sekundäre Immunantwort auslösen können. An Bakterien gebundener PF4 kann also die gleichen Antigene induzieren wie an Heparin gebundener PF4²⁷. Durch Bindung des Fab-Fragments an das Antigen kommt es nach „cross-linking“ zwischen dem Fc-Fragment der an PF4/Heparin gebundenen Antikörper und FcγRIIIa-Rezeptoren auf der Thrombozytenoberfläche zur Plättchenaktivierung und dem klinischen Bild einer HIT^{43,44,45,46,47}. Letztlich handelt es sich um eine fehlgeleitete Immunantwort („misdirected bacterial defense mechanism“)²⁹. Da die PF4-vermittelte Oponierung von Bakterien deren Eintritt in die Blutzirkulation erfordert, die Inzidenz einer Sepsis aber viel zu gering ist, um die im Vergleich beobachtete Serokonversionsrate bei kardio-chirurgischen Patienten von bis zu 50–75 % oder bei orthopädischen Patienten von ca. 15 % (Range 10,75–38,6 %, siehe Tabelle 1) zu erklären^{1,48,49,50}, untersuchten Greinacher et al. die Möglichkeit einer in der Bevölkerung weit verbreiteten chronischen Infektion mit transienten Bakteriämien wie Parodontitis als potentielle Ursache der primären Immunisierung²⁷. PF4 war dabei in der Lage, parodontale Erreger (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; *Porphyromonas gingivalis*) zu binden. Diese PF4/Polyanion-Komplexe wurden durch humane anti-PF4/Heparin-Antikörper erkannt. Eine parallel durchgeführte Querschnittstudie (n=3500) bestätigte die Assoziation von anti-PF4/Heparin-Antikörpern und Parodontitis²⁷. Dem vereinfachten Modell von primärer und sekundärer Immunantwort bei der Etablierung einer HIT folgend, erfordert eine vorbestehende Immunisierung die wiederholte Exposition mit dem Antigen, um die klinischen HIT- Manifestationen auszulösen. Diese kann auf pharmakologischem Weg, z.B. Heparin und Fondaparinux, (siehe Abschnitt 1.4.3) stattfinden und/oder durch endogene oder bakterielle, polyanionische Trigger ausgelöst werden (siehe Abschnitt 1.4.2).

1.3 Inzidenz der HIT

Die Inzidenz der HIT ist vom untersuchten Patientenkollektiv abhängig. So sind internistische Patienten weit weniger von einer manifesten HIT betroffen als chirurgische Patienten¹. Unter den chirurgischen Patienten kommt es bei kardiochirurgischen Patienten bei 50–75 % zur Bildung von HIT- Antikörpern (Serokonversion)^{1,48,49,50}. Eine klinisch manifeste HIT entwickelt sich nach kardiochirurgischen Eingriffen jedoch nur bei einem kleinen Teil der Patienten (Thrombozytopenie: 2 %; thromboembolische Komplikationen: 1 %)¹.

Ein besonders hohes Risiko für die Entwicklung einer HIT besteht vor allem für Patienten, die im Rahmen einer orthopädischen Operation unfraktioniertes Heparin erhalten haben¹. Die Serokonversionsrate unter Gabe von UFH liegt bei diesen Patienten bei ca. 15 % (Range 10,75–38,6 %, siehe Tabelle 1), wobei sich bei ca. 5 % der Patienten im Labor eine Thrombozytopenie nachweisen lässt. Bei 3 % kommt es in Folge zu thromboembolischen Komplikationen¹.

Die Serokonversionsrate bei Patienten mit einem größeren orthopädischen Eingriff, z.B. einer Implantation einer totalen Knie- oder Hüftgelenkendoprothese und Gabe eines NMH, beträgt im Vergleich zu der Gabe eines UFH ca. 5 - 8 % (Range 0,1–16,1 %) versus 15 % (Range 10,75–38,6 %, siehe Tabelle 1). Bei lediglich 1 % dieser Patientengruppe entwickelt sich eine Thrombozytopenie, bei 0,5 % kommt es zu symptomatischen thromboembolischen Ereignissen¹.

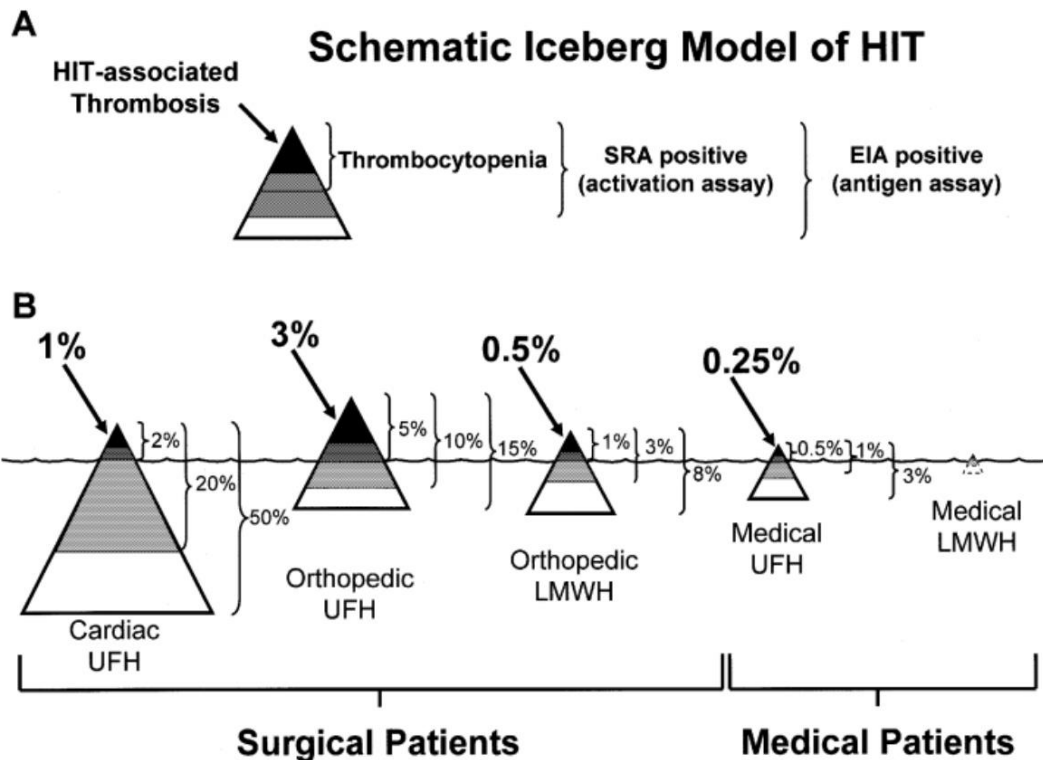


Abbildung 2: Das Schematische "Eisbergmodell" nach Warkentin zeigt den Zusammenhang zwischen der Bildung von HIT-Antikörpern, Thrombozytopenie und HIT-assoziierten Thrombosen. (B) Eisbergmodell der HIT in Abhängigkeit von der Art des Heparins und der Patientenpopulation¹. Mit Genehmigung des Wiley-Blackwell-Verlages verwendet.

Dass die Art des Heparins eine entscheidende Rolle bei der Entstehung einer HIT bzw. der Serokonversion spielt, zeigt die Tatsache, dass unter der Gabe von unfraktioniertem Heparin ca. zehnmals häufiger eine HIT auftritt als unter niedermolekularem Heparin⁵¹.

Insgesamt zeigt sich, dass, wie in Abbildung 2 dargestellt, nur bei einem kleinen Teil von Patienten, die HIT-Antikörper entwickeln, auch klinische Manifestationen wie Thrombozytopenie oder thromboembolische Komplikationen auftreten. Bei der Mehrzahl der Patienten bleibt die immunologische Antwort auf die Serokonversion beschränkt. Publierte Studien zur Untersuchung der Antikörper und HIT-Inzidenzen in verschiedenen Patientenkohorten sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1 - Inzidenz der HIT Antikörper

Quelle	Fall-zahlen	Art des Eingriffes/ Prozedur	Antikoagulanz	Inzi-denz der HIT	Sero-konversion von AK (%)	Messverfahren [ELISA (Polyspezifisch IgG, IgA, IgM oder Singletest IgG, EIA, SRA, PAGIA, HIPA)]
Ahmad et al., 2002	475-669	TKA & THA	UFH	k.A.	10,75 (of ELISA+)	SRA (ELISA-1)
		TKA & THA	LMWH	k.A.	6,15 (of ELISA+	
	232	TKA	LMWH	k.A.	k.A.	
	374	THA	LMWH	k.A.	k.A.	
Ahmad et al., 2003	ca. 200	Gipsverband (Alter ≤ 18 J.)	Placebo	0	0; (0,9)	SRA (ELISA-4) [ELISA 5]
	ca. 200		LMWH	0	0; (0,6)	
Ahmad et al., 2004	111	v.a HIT	UFH	100	27; (49)	SRA (ELISA-4)
	50	Gesundspende r	n.a.	0	0; (<1)	
	612	TKA & THA	UFH	k.A.	10,8*; (30,4)	
	617	617	LMWH	k.A.	6,2*; (10,5)	
Amiral et al., 1996	109	various (kurativ und prophyl.	UFH	k.A.	(17); [3/19 pan- pos]	in-house (pan)- und [IgG] ELISA
	100		LMWH	k.A.	(8); [2/8 pan-pos]	
Assfalg & Hüser, 2016						
Avidan et al.; 2011	59	Thorax und Herzchirurgie	LDUH	0	13,6	ELISA-1a
	59		Desirudin	0	10,2	
	82		UFH(peri-OP)	0	17,1	
	36		Desirudin only	0	0	
Bito et al., 2016	2069	TKA & THA	various (see comm.)	k.A.	12,7	ELISA-1a
	365		various w/ o DMT	k.A.	11,8	
	365		various w/o DMT	k.A.	6,3	
Boonya wat et al., 2014	73	cardiac surgery	UFH/ LMWH/none	0	POW3 : (6,8); 0 of ELISA+	in- house anti-IgG ELISA) SRA

Demma et al., 2011	50	cardiothoracic surgery, ICU	k.A.	10	k.A; 22	ELISA-4, ELISA-6, see note) SRA
Everett et al., 2007	299	cardiac surgery	UFH	4	pre: 4,3; post: 22,4	ELISA-1
Foo et al., 2006	500	cardiac catheterisation/ PCI	UFH	0,2	pre: 3,0; post: 10,1	ELISA-1
Francis et al., 2003	99	cardiac surgery	bovine heparin	(2/99)	44,4	ELISA-4
	108		porcine heparin	0	30,6	
Gluckman et al., 2009	333	cardiac surgery	UFH	1,5 (3 of ELISA A-4+)	POW6: 52; [POW6:39]; 14 of ELISA-4+	(ELISA-4) [ELISA-5] SRA
Greinacher et al., 2005	231	TKA & THA	UFH	5,2	12,4; (23,5)	(ELISA-4) HIPA
	271		LMWH	0	5,5 (8,3)	
Griffin et al., 2011	50	acute hip fracture	UFH	k.A.	BL: 8: POD1-7:32 (56 of ELISA 4+)	ELISA-4 (ELISA-7)
	50		LMWH	k.A.	BL: 8: POD1-7:18 (11 of ELISA 4+)	
Izumi et al., 2016	26	TKA (RA)	Edoxaban	k.A.	4,5	ELISA-5
	98	TKA (OA)			25,8	ELISA-1a
	4	TKA (RA, J-PSVT)	UFH		25	
	65	TKA (OA, J-PSVT)			18,5	
	27	TKA (RA, J-PSVT)	LMWH		7,4	
	191	TKA (OA, J-PSVT)			15,2	
	77	TKA (RA, J-PSVT)	Fondaparinux		10,4	
	261	TKA (OA, J-PSVT)			21,8	
	87	TKA (RA, J-PSVT)	none		9,2	
Lubenow et al., 2010	100	UCH (major)	UFH	4	17	in-house pan-ELISA
	124		LMWH	0,8	4	
	189	UCH (major)	UFH	0	1,6	
	148		LMWH	0	0	
Matsuo et al., 2005	252	akutes Koronarsyndrom	UFH	1,6	8,7	ELISA-1a

Mattioli et al., 2009	500	cardiac surgery	UFH	k.A.	BL: 15,6; POD6: 26,2; POD3: 3 of POD6+	ELISA - (1/1a/2)
Motokawa et al., 2011	60	THA	UFH	0	28,3	ELISA-5
	64	THA	LMWH	0	6,3	
	49	THA	Fondaparinux	0	8,2	
	44	TKA	UFH	0	38,6	
	31	TKA	LMWH	0	16,1	
	32	TKA	Fondaparinux	0	25	
Mullen et al., 2008	60	primary neonatal cardiac surgery	UFH	0	POD5: 1,7; POD10: 1,7	ELISA-1a
	75	reoperation pediatric cardiac surgery	UFH	1,3	POD5: 16; POD10: 52	
Mya et al., 2016						
Pouplard et al., 1999	157	cardiac surgery (primarily valve replacement)	UFH	3,8		
	171	cardiac surgery (primarily CABG)	LMWH	0		
	all		UFH/LMWH		POD7-10: 25,3	
Pouplard et al., 2005	305	cardiac surgery	UFH/LMWH	1,3	53,4	ELISA-1a
Sakai et al., 2016	58	TKA	Edoxaban w/ foot pump	0	20,7	ELISA-5
	62		Edoxaban w/ foot pump	0	25,8	
Selleng et al., 2010	581	cardiac surgery	UFH, Marcumar, LMWH	0,5(0,9 of UFH only)	POD6: k.A. (26,7) [4,3], POD10: 7 4,6 (52,5)[12,3]	in-house pan- & (IgG)-ELISA [HIPA]
Selleng et al., 2015	320	ICU, various	UFH, LMWH	0,6	POD10: (7,2) [5,5]	in-house pan- & (IgG)-ELISA [HIPA]
Torigoshi et al., 2009	60	THA	UFH	0	31,7	ELISA-4
	44	TKA		0	38,6	
Trossaert et al., 1998	51	cardiac surgery	UFH	0	27 (4)	in-house pan-ELISA (PAT)

Visentin et al., 1996	44	cardiac surgery	UFH	0	POD6: 34,1 (18,2)	in-house IgG/IgM (IgG) ELISA
	7		LMWH	0	POD6: 14,3 (14,3)	
Warkentin et al., 2005		Übersichtsartikel				
Warkentin et al., 2012		Übersichtsartikel				
Warkentin et al., 1995	332	THA	UFH	2,7	7,8	SRA
	333	Note	LMWH	0	2,2	
Warkentin et al., 2000	100	cardiac surgery	UFH	1	50 (20)	in-house IgG (SRA)
	205	orthopadic surgery	UFH	4,9	14,1 (9,3)	
	439	orthopadic surgery	LMWH	0,9	7,5 (3,2)	
Warkentin et al., 2005	365	TKA	LMWH	0	1,4 (5,2)	ELISA-5 (ELISA-4) [SRA]
	388	TKA	Fondaparinux	0	1,3 (2,8)	
	984	THA	LMWH	0	0,1 (1,1)	
	989	THA	Fondaparinux	0	0,4 (1,5)	
Warkentin et al., 2006	173	THA, female	UFH	7,5	k.A.	n.a.
	159	THA, male	UFH	1,9		
	187	THA, female	LMWH	0,5		
	146	THA, male	LMWH	0,7		
	169	medical Patient, female	UFH	0,6		
	206	medical Patient, male	UFH	0		
	347	medical Patient, female	LMWH	0		
	415	medical Patient, male	LMWH	0		
Warkentin et al., 2010	3153	THA/TKA	LMWH	see note	2,5	ELISA-4; in-house IgA; IgM; IgG, SRA
	3171		Fondaparinux		3,5	
Welsby et al., 2017		cardiac surgery	UFH	see note	BL: 20, POD30: 50	ELISA-4
Williams et al., 2003	218	ACS	UFH	k.A.	10,6	ELISA-4
Zaho et al., 2013	661	Hämodialyse > 3 Monate	UFH/ LMWH	0	5,6	ELISA-5

THA - total hip arthroplasty; TKA - total knee arthroplasty; ICU - Intensiv Care Unit; OA - Arthrose;
RA - rheumatoide Arthritis; ACS - Akutes Coronarsyndrom;

Torigoshi et al. konnten in einer Studie an 104 Patienten mit vollständigem orthopädischen Gelenkersatz nachweisen, dass die Serokonversionsrate von HIT-Antikörpern nach der Gabe von UFH für 1-2 Tage im Rahmen der postoperativen Thromboseprophylaxe nach 7 Tagen postoperativ bei 34,6 % lag¹⁷.

Wie in Tabelle 2 gezeigt, ist das Risiko, eine symptomatische tiefe Beinvenenthrombose (TVT) zu entwickeln, bei Patienten mit einem positiven HIT-Antikörpernachweis signifikant höher als bei Patienten ohne Serokonversion¹⁷.

Tabelle 2 - Inzidenzrate symptomatischer TVT von Patienten mit und ohne Serokonversion

	<i>mit Serokonversion</i> n = 36	<i>keine Serokonversion</i> n = 68	<i>Odds Ratio</i> (95%CI)	<i>p-Wert</i>
TVT Inzidenz (%)	11 (30,6 %)	5 (7,4 %)	5,5 (1,7-17,6)	0,028

1.4 Die autoimmune HIT

Bei der autoimmunen heparininduzierten Thrombozytopenie (aHIT) handelt es sich um eine Untergruppe der HIT. Sie besteht aus einer Gruppe verwandter klinischer Syndrome, die alle durch das Vorhandensein von anti-PF4/Polyanion Antikörpern charakterisiert sind (Tabelle 3), die auch unabhängig von Heparin eine ausgeprägte Thrombozytenaktivierung in vitro und in vivo (heparinunabhängige Plättchenaktivierung)⁵² auslösen können. Die heparinunabhängigen, plättchenaktivierenden serologischen Charakteristika können auch bei einer Minderheit ansonsten typischer (heparinabhängiger) HIT-Patienten auftreten⁵².

Tabelle 3 - Syndrome bei autoimmuninduzierter Thrombozythopenie

Klinisches Syndrom	Beschreibung
Verzögerte HIT (<i>Delayed-onset HIT</i>)	HIT beginnt oder verschlechtert sich nach Absetzen von Heparin
Persistierende HIT (<i>Persisting HIT</i>)	HIT persistiert > 1 Woche trotz Absetzens des Heparins
Spontanes HIT Syndrom (<i>Spontaneous HIT syndrome</i>)	HIT ohne vorangegangene Heparinexposition
Flush heparin HIT	HIT induziert durch intermittierende Heparinbolusgaben
Fondaparinuxassoziierte HIT (<i>Fondaparinux-associated HIT</i>)	HIT getriggert durch Exposition mit Fondaparinux
Schwere HIT, assoziiert mit disseminierter intravasaler Koagulopathie (DIC) (<i>Severe HIT with overt DIC</i>)	Thrombozytenzahl: $< 20 \times 10^9 \text{ l}^{-1}$ HIT-assoziierte DIC ist definiert als bestätigte HIT in Kombination mit folgenden Merkmalen: rel./abs. Hyperfibrinogenämie, erhöhte INR-Werte (ohne anderweitige Erklärung) und Normoblastämie

Quelle: Autoimmune heparin-induced thrombozytopenia. Greinacher A, Selleng K, Warkentin TE.⁵²

1.4.1 Molekulare Mechanismen einer aHIT

Die Präsentation des antigenen Epitops bei der aHIT basiert auf einem ähnlichen Pathomechanismus, wie er für die „klassische HIT“ beschrieben wurde (siehe Abschnitt 1.2). Die Bildung größerer multimolekularer PF4 Komplexe, wird vermittelt über langkettige Polyanionen, gefolgt von Konformationsänderungen der PF4-Tetramere und Präsentation der autoantigenen Epitope. Allerdings wird bei der aHIT die initiale Annäherung der PF4-Tetramere nicht durch Heparin als polyanionisches Molekül induziert, sondern durch andere Faktoren, wie bakterielle Zellwandkomponenten (z. B. Lipid A) oder eine traumainduzierte Freisetzung von Nukleinsäuren, die z. B. ein spontanes HIT Syndrom auslösen können^{36,53}.

Des Weiteren wurden Polyanionen, die unter anderem von Plättchen freigesetzt werden, als Auslöser einer verzögerten, einer persistierenden oder einer fondaparinuxassoziierten HIT beschrieben. Zu diesen Molekülen gehören z.B. Chondroitinsulfate und Polyphosphate^{54,55,56}. Diese können auf der Thrombozytenoberfläche zu hohen lokalen PF4 Konzentrationen führen und somit die Annäherung der PF4-Tetramere und Thrombozyten aktivieren, im Unterschied zur typischen HIT sogar in Abwesenheit von Heparin^{57,35}. Obwohl die Präsenz dieser Oberflächenmoleküle die Bildung von Autoantikörpern induzieren kann, sind sowohl die Dauer ihres Auftretens (mindestens fünf Tage) als auch ihre Konzentration zumeist nicht ausreichend, um die klinischen Manifestationen einer HIT und eine mögliche Persistenz der aHIT über Wochen und sogar Monate zu erklären⁵². Weiterhin zeigen diese Patienten ungewöhnliche Verläufe mit schweren Thrombozytopenien (< 20/nl), häufig begleitet von einer disseminierten intravasalen Gerinnungsstörung (DIC) und Mikrothrombosen⁵⁸.

Nguyen et al. konnten zeigen, dass qualitative Unterschiede zwischen heparinunabhängigen und heparinabhängigen, plättchenaktivierenden HIT-Antikörpern nach Isolation aus Patienten mit aHIT bzw. Patienten mit typischer HIT bestehen. Hierbei können heparinunabhängige aHIT-Antikörper neben PF4/Heparin-Komplexen auch PF4 alleine erkennen und im Vergleich zu heparinabhängigen HIT-Antikörpern viel stärker an PF4/Heparin-Komplexe binden. Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass aHIT-Antikörper unterschiedliche Aviditäten aufweisen. Dabei binden die häufigen aHIT-Antikörper mit einer mittlerer Bindungsstärke ausschliesslich PF4/Heparin-Komplexe, wobei die Antikörper mit niedriger Avidität, anders als die Antikörper mit mittlerer Avidität, auch in Anwesenheit von Polyanionen (z.B. Heparin, Chondroitinsulfat) keine Thrombozytenaktivierung bewirken. Die selteneren aHIT-Antikörper hoher Avidität binden sowohl PF4/Heparin-Komplexe als auch PF4 allein (in Abwesenheit von Polyanionen)⁵⁸. Diese Subgruppe von anti-PF4 Autoantikörpern mit hoher Avidität bindet PF4 und induziert heparinunabhängig antigene Epitope, sodass dadurch polyanionabhängige anti-PF4/Polyanion-Antikörper (sind nicht pathogen ohne Heparin bzw. Polyanionen) auch in Abwesenheit von Heparin bzw. anderen Polyanionen in die heparin-/polyanionunabhängigen Immunkomplexe rekrutiert werden

und den Prozess der Plättchenaktivierung weiter steigern^{58,59,60}. Es wird vermutet, dass erst weitere Faktoren, z. B. kardiale oder orthopädische Eingriffe, die Antwort der anti-PF4/Heparin/Polyanion-Antikörperkomplexe verstärken, dadurch einen wie in Abschnitt 1.2 beschriebenen alten evolutionären bakteriellen Abwehrmechanismus intensivieren und eine aHIT auslösen können²⁷.

1.4.2 Spontanes HIT Syndrom

Patienten mit spontanem aHIT Syndrom zeigen klinische HIT Symptome inklusive der entsprechenden Laborparameter ohne eine zeitnahe vorangegangene Heparinexposition bzw. ohne jemals mit Heparin behandelt worden zu sein. Warkentin et al. schlugen für das spontane aHIT Syndrom folgende Definition vor⁶¹:

- Thrombozytopenie (unklarer Genese)
- Thromboembolie
- fehlende Heparinexposition
- positiver serologischer Befund in mehr als 2 PF4-abhängigen Immunoassays
- positiver heparinunabhängiger Plättchenaktivierungstest
- positiver heparinabhängiger Plättchenaktivierungstest (inhibierbar durch 100IU/ml Heparin bzw. FcR-blockierende monoklonale Antikörper)

Seit der Erstpublikation der Daten von 3 Patienten durch Warkentin et al. 2008⁶² sind im Verlauf der letzten Dekade ca. 20 Patienten mit spontaner HIT beschrieben worden^{61-63,64,65,66,67,68,69,70,71,72,73,74,75}.

Zahlen zur Inzidenz der spontanen HIT existieren nicht; in Studien mit bis zu 1377 Patienten mit Knie- und Hüftgelenk-TEP zur Serokonversion unter Fondaparinuxexposition trat kein Fall einer manifesten spontanen HIT auf^{76,77}. Es handelt sich um eine sehr seltene Erkrankung mit einer geschätzten Inzidenz von < 1:1.000.000⁷⁷. Sie ist wie die „klassische“ HIT bei falscher oder zu spät gestellter Diagnose mit einer sehr ungünstigen Prognose aufgrund des Risikos thromboembolischer Ereignisse verbunden⁷³.

Bei den meisten Patienten mit einem spontanen HIT-Syndrom zeigt eine sorgfältige Anamnese ein proinflammatorisches Triggerereignis in der Vorgeschichte (z.B. bakterielle Infektionen, Operationen). Die in diesem Rahmen induzierten aHIT-Antikörper haben die Fähigkeit, Thrombozyten selbst in Abwesenheit von Heparin stark zu aktivieren^{52,78}. Bei einem großen Teil der Patienten wurde ein orthopädischer Eingriff durchgeführt, meistens in Form eines Kniegelenkersatzes^{61,63,64,70,74,75}. Die Annahme ist, dass ein Zusammenhang zwischen der operativen Freisetzung von Glykosaminoglykanen und/oder RNA, z.B. durch Tourniquet Quetschungen, und der Bildung von HIT-Antikörpern mit den konsekutiven klinischen HIT-Manifestationen ohne begleitende Exposition von Heparin bestehen könnte^{52,79}. Auch wurden bakterielle Infektionen wie Parodontitis und Atemwegsinfektionen als Auslöser einer aHIT vorgeschlagen⁶². Für andere Patienten konnten allerdings keine direkten möglichen Triggerereignisse identifiziert werden^{66,61,73}.

1.4.3 Fondaparinuxinduzierte HIT

Fondaparinux ist ein synthetischer Faktor Xa-Inhibitor, dessen Pentasaccharidstruktur von Heparin abgeleitet ist. In mehreren Studien erwies sich sein Einsatz in der Therapie der HIT als sicher und effektiv (off-label)^{80,81}. Trotz der mittlerweile zunehmenden Verbreitung von Fondaparinux liegen nur vereinzelte Berichte von möglicher fondaparinuxassoziierter HIT, sowohl in der therapeutischen als auch in der postoperativen thromboprophylaktischen Anwendung, vor^{79,82-85,86,87,88,89,90}. Die geschätzte Inzidenz liegt bei 0,0005–0,005%⁷⁷.

Obwohl eine Beteiligung des Pentasaccharids Fondaparinux an ultragroßen PF4/Fondaparinux-Molekülkomplexen („ultralarge complexes“)⁹¹, die für eine Thrombozytenaktivierung notwendig sind, nicht beobachtet wurde und HIT-Antikörper normalerweise keine Kreuzreaktivität mit Fondaparinux in vitro oder in vivo aufweisen^{76,77,79,91,92,93}, induzierten in Einzelfällen fondaparinuxassoziierte HIT- Seren eine fondaparinuxabhängige Plättchenaktivierung in Abwesenheit von Heparin^{71,79,83,87,94}.

Es kann andererseits aber auch nicht ausgeschlossen werden, dass es sich zumindest bei einigen dieser seltenen, scheinbar fondaparinux-assoziierten HIT Fälle um einen sogenannten „Bystander“-Effekt handelt: Fondaparinux-Exposition ist in diesem Szenario zwar zeitgleich, aber nicht kausal mit der Manifestation der HIT verbunden^{61,83,95}.

Wie im Abschnitt 1.4.2 beschrieben, demonstrierten Warkentin et al., dass Patienten, die nach großen orthopädischen Eingriffen eine Thromboseprophylaxe in Form von Fondaparinux erhielten, ähnlich hohe Serokonversionsraten wie NMH (Enoxaparin) zeigten, und somit Fondaparinux und NMH eine ähnliche Immunogenität aufwiesen⁷⁶. Dieses Ergebnis stand im Widerspruch zu der unter Fondaparinux beobachteten geringen HIT Inzidenz. In vitro konnte gezeigt werden, dass dieses Phänomen mit einer geringeren Fähigkeit von Fondaparinux einhergeht, antigene Epitope zu induzieren und zusammen mit PF4 „ultralarge complexes“ (siehe oben) zu bilden und eine Plättchenaktivierung zu induzieren^{21,91,96}.

1.5 Klinischer Verlauf einer HIT

Man unterscheidet bei der klassischen heparininduzierten Thrombozytopenie drei Verlaufsformen. Die häufigste Form wird als „typical-onset HIT“ bezeichnet und macht ca. 60–70 % der Fälle aus. Sie tritt im typischen Zeitfenster zwischen dem 5. und dem 14. Tag nach Beginn der Heparintherapie auf⁹⁷.

Die „rapid-onset HIT“ stellt mit 20–30 % die zweithäufigste Form dar und tritt bereits innerhalb von 24 Stunden nach Heparinexposition auf. Dieses frühe Auftreten ist auf bereits präformierte Antikörper zurückzuführen, die sich bei einer vorangegangenen Heparinexposition innerhalb der letzten drei Monate gebildet haben^{98,99}.

Eine „delayed-onset HIT“ tritt in 3–5 % der Fälle auf. Das klinische Bild zeigt sich meist erst nach Beendigung der Heparintherapie, in einigen Fällen bis zu drei Wochen nach Abschluss der Heparinbehandlung^{98,100,101}.

1.6 Klinik

Eine manifeste HIT äußert sich klinisch durch einen Thrombozytenabfall von mehr als 30–50 % gegenüber dem Ausgangswert. Die absolute Thrombozytopenie ist mit 40–80/nl (Normwerte: 150–400/nl) meist sehr moderat ausgeprägt, die Thrombozytenzahl fällt in aller Regel nicht unter 20/nl^{1,16}. Hohe Thrombozytenausgangswerte können einen Thrombozytenabfall auch maskieren, sodass gar keine thrombozytopenen Werte erreicht werden¹⁰². Auch andere Differentialdiagnosen der Thrombozytopenie müssen bei der klinischen Diagnosestellung berücksichtigt werden.

Einen Überblick über angeborene und erworbene Ursachen der Thrombozytopenie sind in Tabelle 4 dargestellt.

Tabelle 4 - Differentialdiagnosen der Thrombozytopenie

Erworbene Ursachen	Angeborene Ursachen
<ul style="list-style-type: none">• Sepsis, Folsäuremangel• Hämodilution• Verbrauchskoagulopathie• Massive Thromboembolie• medikamentös-toxisch• Morbus Basedow• HELLP Syndrom• Posttransfusionspurpura• Kollagenosen• aplastische Anämie• Vitamin B12 Mangel	<ul style="list-style-type: none">• Thrombopoetinmangel• Alport-Syndrom• Megakaryozytäre Hypoplasie• Fanconi-Syndrom• Wiskott-Aldrich-Syndrom• Von-Willebrand-Syndrom

Leitlinie nach Matzdorff, A et al., 2010 Onkologie Diagnostik und Therapie der Immunthrombozytopenie.

Eine HIT kann sich klinisch entweder als isolierte Thrombozytopenie oder in Kombination mit thromboembolischen Gefäßverschlüssen, sowohl im venösen als auch im arteriellen Gefäßbett, manifestieren. Eine manifeste Thrombose kann dabei zeitlich auch vor einem Thrombozytenabfall auftreten¹⁰³.

Trotz einer auftretenden Thrombozytopenie kommt es bei einer HIT nur sehr selten zu Blutungskomplikationen¹⁰⁴. Thromboembolische Komplikationen sind dagegen sehr häufig¹⁰⁵. Die tiefe Beinvenenthrombose stellt zusammen mit der Lungenarterienembolie die häufigste thromboembolische Komplikation der HIT dar¹.

Das venöse Thromboserisiko im Rahmen einer HIT liegt bei 30–75 %¹⁰⁵.

Während venöse Thrombosen bei internistischen und orthopädischen Patienten (2,3 : 1) dominieren, treten bei kardio- und gefäßchirurgischen Patienten arterielle Thrombosen deutlich häufiger auf (8,5 : 1)¹⁰³. Die arteriellen Verschlüsse betreffen dabei am häufigsten Extremitätenarterien, zerebrale Gefäße, Koronararterien sowie Mesenterial – und Nierenarterien.

Als weitere klinische Zeichen einer HIT treten in 10–20 % der Fälle Hautnekrosen auf, die durch eine Mikrothrombosierung kleiner dermaler Gefäße verursacht werden¹⁰⁶. Nach Gabe eines intravenösen Heparinbolus kann es selten zu systemischen anaphylaktischen Reaktionen kommen¹⁰⁷.

1.7 Diagnostik der HIT

Der am besten evaluierte klinische Score, der die Vorhersagewahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer HIT untersucht, ist der 4Ts-Score nach Lo et al.¹⁰⁷. Dieser Score beinhaltet den Zeitpunkt des Auftretens und die Ausprägung der Thrombozytopenie, das Vorkommen thromboembolischer Komplikationen sowie andere mögliche Differentialdiagnosen für eine Thrombozytopenie. Die Diagnose einer HIT wird aus der Kombination von klinischen Aspekten und Laborparametern abgeleitet. Laborchemisch unterscheidet man zwei Gruppen von Tests. Der Serotonin-Freisetzungstest (14C-SRA)¹⁰⁸, der heparininduzierte Plättchenaktivierungstest (HIPA)¹⁰⁹ und der Plättchenaggregationstest (PAT)¹¹⁰ messen die heparininduzierte Thrombozytenaktivierung und zählen somit zu den funktionellen Testverfahren. Immunologische, antigenbasierte ELISA (enzyme-linked immunosorbant assay) Tests weisen ex vivo die Bindung von HIT-Antikörpern aus Patientenplasma gegen Komplexe aus PF4 und Heparin nach¹¹¹. Hierzu zählen u.a. der PaGIA (particle-gel immunoassay)¹¹², unspezifische Poly-Ig-ELISA (IgG, IgA und IgM)¹¹³ und spezifische IgG ELISA¹¹⁴.

Pouplard et al. konnten in einer Studie nachweisen, dass der IgG ELISA die höchste diagnostische Sensitivität und Spezifität unter den antigenbasierten Tests aufweist¹¹⁵.

Zur Diagnostik sollte immer ein ELISA mit einem funktionellen Test kombiniert werden. Durch Kombination beider Testverfahren lässt sich eine Sensitivität von 100% und eine Spezifität von über 95% erreichen^{105,116}.

1.8 Therapie der HIT

Schon bei Verdacht auf eine vorliegende HIT muss die Heparinabgabe sofort beendet werden. Die immunologisch vermittelte prokoagulatorische Situation hält auch nach Beendigung der Heparinabgabe weiter an, sodass umgehend mit einer alternativen Antikoagulation begonnen werden sollte¹¹⁷, um die gefürchteten thromboembolischen Komplikationen zu vermeiden. Bei Beendigung der Heparintherapie ohne Beginn einer alternativen Antikoagulation ist bei mindestens 50% der Patienten innerhalb der folgenden 4 Wochen mit einer Gefäßkomplikation in Form von venösen Thrombosen zu rechnen^{118,119}.

Medikamente, die zur alternativen Antikoagulation bei einer HIT zugelassen sind, sind die direkten Thrombininhibitoren Bivalirudin und Argatroban¹²⁰⁻¹²² sowie das Heparinoid Danaparoid¹²³, ein Faktor Xa-Inhibitor mit geringer Thrombininhibition. Der synthetisch hergestellte antithrombinabhängige indirekte Faktor Xa- Inhibitor Fondaparinux wurde bisher ebenfalls zur Therapie der HIT eingesetzt, allerdings handelt es sich hierbei um eine off - label Anwendung¹²⁴⁻¹²⁶. Sein Einsatz wurde in einem deutschlandweiten HIT- Register auf seine Wirksamkeit und Sicherheit untersucht. Eine formale Zulassung für die Behandlung der HIT liegt jedoch nicht vor⁸⁰. Patienten mit einer autoimmunen HIT benötigen eine langfristige Therapie, da die Dauer einer aHIT einige Wochen betragen kann. Anstelle der Thrombozytenzahlen können die Bestimmung von Fibrin, D-Dimeren und Fibrinogen helfen, den Therapieerfolg zu überwachen. Zu beachten gilt bei einer Therapie mit aPTT-gesteuerten Antikoagulanzen wie Argatroban oder Bivalirudin, dass es durch ein aPTT "Confounding", z.B. im Rahmen einer DIC, auch zu einer Unterdosierung und somit zu einem Therapieversagen kommen kann¹²⁷.

Die sicherste Therapie einer HIT erfolgt über nicht - aPTT gesteuerte Antikoagulanzen wie Danaparoid und Fondaparinux oder alternativ über eine Steuerung der Antikoagulation mit den Thrombininhibitoren Argatroban und Bivalirudin mit chromogenen anti-Faktor IIa Assays^{128,129,130}. Danaparoid ist das einzige Antikoagulans, das in seiner therapeutischen Konzentration die HIT Pathogenese direkt beeinflussen kann, indem es PF4 von der Plättchenoberfläche verdrängt und die PF4-haltigen Antigenkomplexe dadurch aufzulösen vermag^{131,132}. Fondaparinux ist ein sehr wirksames Antikoagulans zur Behandlung einer HIT, allerdings liegen keine randomisierten kontrollierten Studien vor^{80,133-135}. Ebenso wie bei Danaparoid kann auch bei Fondaparinux eine Überdosierung durch eine Bestimmung der Konzentration mittels chromogenem anti-Faktor Xa Assay vermieden werden^{133,135}. Direkte orale Antikoagulanzen wie Rivaroxaban können ebenfalls sehr wirksam sein, allerdings handelt es sich ebenso wie bei Fondaparinux um eine off-label Anwendung. Es liegen bisher nur Erfahrungen als Fallberichte oder Fallserien^{81,136,137} vor. Ein Nachteil in der Behandlung einer schweren HIT mit Rivaroxaban besteht in der grossen interindividuellen Variation der Medikamentenspiegel und der bisher fehlenden klinischen Validität therapeutischer Spiegel im Kontext der HIT-Behandlung^{52,138}. Eine additive Therapieoption der HIT besteht in der Gabe von hochdosierten Immunglobulinen⁵².

1.9 Chemische Struktur und Wirkmechanismus der Heparine

Heparin ist trotz der Entwicklung direkter oraler Antikoagulanzen die am häufigsten verwendete Substanz zur Prophylaxe und Therapie thromboembolischer Prozesse bei stationären und ambulanten Patienten⁶.

Die Bindung und Aktivierung von Antithrombin, einem endogenen Serpin, durch Heparin beschleunigt in der Gerinnungskaskade die Inaktivierung von Thrombin und Faktor Xa und wirkt somit hemmend auf die plasmatische Gerinnung. Unter physiologischen Bedingungen ist dies ein sehr langsamer Prozess, der durch die Bindung von Heparin an Antithrombin und die daraus resultierende Konformationsänderung massiv (um den Faktor 1000) katalysiert wird⁴.

Heparine bestehen aus einem heterogenen Gemisch aus Polysaccharidketten unterschiedlicher Länge (16–170 Monosaccharideinheiten). Aus diesem Grund weisen Heparine ein heterogenes Molekulargewicht auf¹³⁹. Der Teil des Heparinmoleküls, der zur Bindung an Antithrombin und dessen Aktivierung notwendig ist, besteht aus fünf Saccharideinheiten. Diese spezielle Pentasaccharidsequenz findet sich bei Heparinen nur bei maximal 30 % der Heparinmoleküle^{139,140}. Heparin besitzt zusätzlich zur Antithrombinbindungsstelle auch eine Thrombinbindungsstelle. Zur Inaktivierung von Thrombin ist ein Komplex aus Heparin, Antithrombin und Thrombin notwendig^{139,140}. Erst wenn eine Polysaccharidkette aus mindestens 15–18 Einheiten besteht, ist eine Interaktion von Heparin mit Thrombin möglich¹³⁹.

Die Thrombinbindungsstelle ist im Vergleich zur exakt definierten Pentasaccharidsequenz der Antithrombinbindungsstelle deutlich weniger spezifisch. Heparin besitzt unter allen Glykosaminoglykanen die höchste negative Ladungsdichte, was auf die im Molekül vorkommenden Carboxyl- und Sulfatreste zurückzuführen ist¹⁴¹.

1.10 Rivaroxaban

Rivaroxaban ist ein oral bioverfügbarer, selektiver, direkter Faktor Xa- Inhibitor und seit 2008 zur Prophylaxe von venösen Thromboembolien (VTE) nach elektiven Hüft- und Kniegelenkersatzoperationen zugelassen⁵². Des Weiteren ist Rivaroxaban auch zur Prophylaxe von Schlaganfällen und systemischen Embolien bei Patienten mit nicht-valvulärem Vorhofflimmern sowie zur Therapie von venösen Thromboembolien zugelassen. Faktor Xa spielt eine zentrale Rolle in der Gerinnungskaskade¹⁴². Die Inhibition von Faktor Xa führt sowohl über den intrinsischen als auch den extrinsischen Weg der Gerinnungskaskade zur Hemmung der Bildung von Thrombin¹⁴³.

Im Bereich der orthopädischen Thromboseprophylaxe wurde Rivaroxaban in der Dosierung von 10mg in vier großen Studien (Record I–IV) mit Enoxaparin 40mg verglichen¹⁴⁴. Hierbei zeigte sich unter der Behandlung mit Rivaroxaban eine signifikante Abnahme des primären Endpunktes (tiefe Venenthrombose, nicht-tödliche Lungenarterienembolien und Gesamttodesfälle:

2,0 % in der Rivaroxabangruppe und 9,3 % in der Enoxaparingruppe). Dies entspricht einer absoluten Risikoreduktion von 7,3%. Der primäre Sicherheitsendpunkt, die Rate schwerer postoperativer Blutungen, war unter 10mg Rivaroxaban und 40mg Enoxaparin vergleichbar (6 % in der Rivaroxaban-Gruppe und 5 % in der Enoxaparin-Gruppe, $p=0,25$)¹⁴⁵.

Rivaroxaban wird schnell resorbiert. Die maximale Plasmakonzentration (C_{max}) wird 2-4 Stunden nach der oralen Einnahme erreicht^{146,147}.

Die Elimination von Rivaroxaban erfolgt über zwei Wege. Ungefähr 1/3 des Wirkstoffes wird renal eliminiert (36 %). Davon entfallen ca. 30 % auf die direkte, unveränderte Sekretion im Urin und 6 % auf die glomeruläre Filtration¹⁴⁸. Etwa 2/3 unterliegen dem metabolischen Abbau. So wird der Wirkstoff Rivaroxaban von den P450-Enzymen CYP 3A4/5 (18 %) und CYP 2J2 (14 %) sowie durch CYP-unabhängige Mechanismen verstoffwechselt¹⁴⁹.

Diese von der oxidativen Biotransformation unabhängige, non-CYP vermittelte Hydrolyse macht 14 % der gesamten Rivaroxaban Elimination aus¹⁵⁰. Die sich ergebenden Metaboliten werden renal und über die hepato-biliäre Route eliminiert¹⁴⁸.

1.11 Zielsetzung

Bisher ist bekannt, dass die Bildung von HIT-Antikörpern sowohl durch körpereigene Glykosaminoglykane getriggert werden kann als auch ohne vorherige Heparinexposition im Rahmen eines Autoimmunphänomens möglich ist¹⁴. Bestimmte Patientenpopulationen (orthopädisch/ kardiologisch) weisen nach Heparinexposition eine höhere Serokonversionsrate auf als andere (internistisch/ gynäkologisch/ pädiatrisch). Das Ziel unserer Studie ist es, die Bildung von HIT-Antikörpern bei Patienten mit orthopädischen Eingriffen ohne den Einfluss von Heparin zu untersuchen, um hierdurch die höheren Serokonversionsraten besser zu verstehen. Als Patientenkollektiv dienten hierbei Patienten, denen postoperativ der orale Faktor Xa-Inhibitor Rivaroxaban anstatt eines niedermolekularen Heparins zur Thromboseprophylaxe verabreicht wurde. Die Patienten wurden sowohl präoperativ als auch postoperativ auf das Vorliegen von HIT-Antikörpern untersucht.

2. Patienten und Methoden

2.1 Patientenauswahl und Einschlusskriterien

Die Studie wurde von der Ethikkommission des Fachbereiches Medizin der Goethe-Universität geprüft und unter der Geschäftsnummer 243/09 genehmigt.

Die Datensammlung erfolgte von September 2010 – September 2014.

In die Studie eingeschlossen wurden konsekutiv alle stationären Patienten der Klinik für Orthopädie und Unfallchirurgie unter der Leitung von Prof. Dr. Stefan Rehart am Agaplesion Markus Krankenhaus in Frankfurt und der Orthopädischen Universitätsklinik Frankfurt (Friedrichsheim) unter der Leitung von Prof. Dr. Andrea Meurer, die sich einem geplanten Gelenkersatz der Hüfte oder des Knies unterzogen und zur Antikoagulation postoperativ Rivaroxaban 1 x 10 mg per os ab dem Abend des Eingriffs erhielten.

Die Mindestdauer der Gabe bis zur postoperativen Blutentnahme zur Bestimmung der HIT-Antikörper zum Nachweis einer HIT betrug 5 Tage.

Das Mindestalter zur Teilnahme an der Studie lag bei 18 Jahren.

Alle eingeschlossenen Patienten gaben nach einer ausführlichen Aufklärung über das Procedere ihr schriftliches Einverständnis zur Teilnahme an der Studie.

2.2 Ausschlusskriterien

Ausschlusskriterien für eine Teilnahme an der Studie waren Minderjährigkeit (<18 Jahre), ein fehlendes Einverständnis und eine stattgehabte Heparinexposition innerhalb der vorangegangenen 3 Monate. Außerdem durften die Patienten auch intra- und postoperativ kein Heparin erhalten. Ein weiteres Ausschlusskriterium war eine eingeschränkte Nierenfunktion mit einer GFR < 30 ml/min sowie alle entsprechenden Kontraindikationen gemäss der Fachinformationen zur Anwendung von Rivaroxaban¹⁵¹. Ebenso wurden alle Patienten ausgeschlossen, bei denen bereits in der präoperativen Bestimmung HIT-Antikörper nachgewiesen werden konnten.

2.3 Klinische Datenerfassung

Bei allen teilnehmenden Patienten erfolgte eine ausführliche Anamnese.

Folgende Parameter wurden erhoben:

- Patientendaten: Alter, Geschlecht, Gewicht, Größe, eine bestehende Schwangerschaft, Vorerkrankungen, Voroperationen, aktuelle Medikamenteneinnahme
- Frühere und ggf. letzte Exposition gegenüber Heparin und das Auftreten eventueller Komplikationen im Rahmen der Heparin-gabe
- Thrombosen und Lungenarterienembolien in der Vorgeschichte

Fehlende Angaben wurden aus der Krankenakte entnommen und ergänzt.

2.4 Bestimmung der HIT-Antikörper

2.4.1 PF4-Heparin-ELISA

Die Bestimmung der anti-PF4/Heparin-Antikörper wurde mittels ELISA (Asserachrom® HPIA - IgG, Diagnostica Stago, Paris, Frankreich) nach den Angaben des Herstellers durchgeführt^{11,113,152}.

Dafür wurden venöse Blutproben der Patienten durch den Doktoranden (M.L.) mit 0,106 mol/l Natriumcitrat 15 min bei 2.000 g zeitnah nach der Blutentnahme im Gerinnungslabor zentrifugiert. Bis zur endgültigen Messung durch medizinisch-technische Assistentinnen- und Assistenten im Labor für Hämostaseologie des Universitätsklinikums Frankfurt wurden die Citratplasma-Proben bei -70°C gelagert. Auf Mikrotiterplatten, deren Kavitäten mit PF4/Heparin-Antigen-Komplexen beschichtet waren, wurde im folgenden Schritt das gewonnene Patientenplasma zugegeben. Im Patientenplasma vorhandene anti-PF4/Heparin-Antikörper binden im Rahmen von Antigen-Antikörper-Reaktionen. Diese gebundenen anti-PF4/Heparin-Antikörper können im nächsten Schritt durch Peroxidase-gekoppelte goat-anti-humane IgG-Antikörper markiert und durch eine Tetramethylbenzidin-abhängige Farbreaktion visualisiert werden. Diese anschließende Farbreaktion wurde durch Zugabe von einer 1-molaren Schwefelsäurelösung gestoppt und die Extinktion der Probe zwecks

Quantifizierung bei 450 nm gemessen. Die chargenabhängigen Vorgaben des Herstellers wurden als Cut-off Bereich für einen positiven Befund verwendet.

2.4.2 Heparininduzierter Plättchenaktivierungstest

Der Heparininduzierte Plättchenaktivierungstest (HIPA) erfolgte modifiziert nach dem standardisierten Protokoll von Eichler et al.¹⁵³.

Dieser wurde im Thrombozytenlabor des DRK Blutspendedienstes NSTOB in Dessau von Dr. Hartmut Kroll durchgeführt. Zur Aufarbeitung und Präparation der Testthrombozyten wurde plättchenreiches Plasma (PRP) von gesunden Spendern aus Citratblut gewonnen. Das Citratblut, bestehend aus 1,6ml Adenin-Natriumcitrat-Dextrose (ACD) und 8,4 ml Spenderblut, wurde anschließend 25 Minuten bei 800U/min zentrifugiert und pro Milliliter mit 111 Mikroliter ACD und 5 Mikroliter Apyrase (1000 IE/ml) versetzt. Anschließend wurde nach erneuter Zentrifugation bei 2000 U/min der Überstand verworfen und die gewünschten Testthrombozyten angereichert. Zur Beibehaltung eines günstigen Reaktionsmilieus (physiologische Calciumkonzentration und reduzierte IgG-Plasmaproteinspiegel) wurden die Plättchen in einem calcium- und magnesiumfreien Tyrodepuffer gewaschen und bei 2000 U/min erneut zentrifugiert. Dieser Tyrodepuffer erhielt zusätzlich 1IE/ml Hirudin und 2,5IE Apyrase. Anschließend wurde das fertige Thrombozytenpellet in einem Suspensionspuffer (0,212 M Mg Cl₂ und 0,196 M CaCl₂) auf 300 000 Zellen/Mikroliter eingestellt. Zur Verhinderung einer thrombin- bzw. komplementinduzierten Plättchenaktivierung wurden 20 Mikroliter Patientenserum bei 56 C° für 30 Minuten hitzeinaktiviert und mit 75 Mikroliter der zuvor gewonnenen Thrombozytensuspension unter Zugabe von 10 Mikrolitern einer niedrigen Heparinkonzentration(NMH 0,2IE/ml) bzw. einer hohen Heparinkonzentration (UFH 100IE/ml) für 45 Minuten in Mikrotiterplatten inkubiert. Nach abgeschlossener Inkubation und zur Detektion einer möglichen Aggregation bei Vorkommen von HIT-Antikörpern folgte eine optische Messung. Diese Ergebnisse wurden mit standardisierten Positivkontrollen verglichen. Als positive Reaktionen wurden eine Aggregation innerhalb von 30 Minuten bei mindestens 3 von 4 Spendern nach Zusatz einer niedrigen Heparinkonzentration

und das Ausbleiben einer Aggregation nach Zusatz einer hohen Heparinkonzentration gewertet.

2.4.3 Bestimmung der Laborparameter

Die benötigten Laborparameter Hämoglobin (Hb), Thrombozyten, C-reaktives Protein (CRP) und Kreatinin wurden mit Hilfe von Standardassays in den jeweiligen laborchemischen Instituten des Markus Krankenhauses und des Universitätsklinikums Frankfurt am Main bestimmt. Die glomeruläre Filtrationsrate wurde mit Hilfe der MDRD Formel ($GFR/ml/min/1,73m^2 = 186 \times (S\text{-Kreatinin})^{-1,154} \times (\text{Alter})^{-0,203} \times 0,742 (F)$) durch das Labor berechnet¹⁵⁴.

2.4.4 Statistik und Fallzahlberechnung

Die Fallzahlberechnung wurde mit der Software Bias 8.4.6.® (Epsilon Hochheim Darmstadt, Deutschland) mit Unterstützung des Institutes für Biostatistik und Mathematische Modellierung durch Frau Balaban unter der Leitung von Frau Prof. Dr. Eva Herrmann durchgeführt.

Bei einer Fallzahl von 107 Probanden kann man die Inzidenz der HIT-AK mit einer Präzision von mind. $\pm 8,0 \%$ bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit α von 0,05, d.h. einer Konfidenz p von 0,95, ermitteln. Die Fallzahlkalkulation wurde bereits mit einer Drop Out Rate von 10 % einkalkuliert. Die weiteren statistischen Auswertungen erfolgten mit der GraphPad Prism Version 5.05 Software für Windows, GraphPad Software, San Diego California USA.

Folgende Parameter wurden als Mittelwert \pm berechnet: Alter, BMI, CRP, Leukozyten, HIT ELISA, Thrombozyten, Glomeruläre Filtrationsrate, Hämoglobin.

Als Median \pm Spannweite wurden folgende Parameter berechnet: Alter, BMI, C-reaktives Protein, Leukozyten, HIT ELISA, Thrombozyten, Glomeruläre Filtrationsrate, Hämoglobin.

3. Ergebnisse

3.1 Patientencharakteristika

Von September 2010 – September 2014 wurden an der Orthopädischen Klinik des Markus Krankenhauses Frankfurt am Main und an der Orthopädischen Universitätsklinik Friedrichsheim in Frankfurt am Main insgesamt 141 Patienten in die Studie eingeschlossen, für die eine elektive totale Hüft- oder Kniegelenkersatzoperation vorgesehen war und die den Ein- und Ausschlusskriterien entsprachen. Die Daten von 107 Patienten konnten ausgewertet werden. Im Verlauf der Studie mussten 34 Patienten von der Analyse ausgeschlossen werden. Gründe dafür waren folgende: 17 Patienten erhielten aufgrund der Entscheidung des Operateurs intra- oder postoperativ eine Heparin-Gabe in Form von NMH (Enoxaparin), 12 Patienten verweigerten die postoperative Blutentnahme bzw. zogen aus persönlichen Gründen ihre Einverständniserklärung zurück, weitere 5 Patienten mussten wegen eines postoperativen Vorhofflimmerns (1 Patient), einer Erhöhung des Kreatininwertes (3 Patienten) oder wegen einer Gerinnungsstörung (1 Patient) vor Beginn der Thromboseprophylaxe mit Rivaroxaban ausgeschlossen werden.

Von den 107 eingeschlossenen Studienteilnehmern waren 65 Patienten weiblich (60,7 %) und 42 männlich (39,3 %). Das Durchschnittsalter der eingeschlossenen Patienten betrug zum Zeitpunkt der Datenerhebung 66 Jahre (siehe Tabelle 5). Der Body-Mass-Index lag im Durchschnitt bei 29,5 kg/m² und somit nur knapp unter dem von der WHO für Adipositas definierten Grenzwert (BMI > 30,0 kg/m²)¹⁵⁵.

Tabelle 5 - Demographische und klinische Charakteristika der Kohorte

	N	Kontinuierliche Parameter		Kategoriale Parameter
		Median (IQR)	Mittelwert (SD)	N (%)
Demographische Charakteristika				
Geschlecht m/w	107			42/65 (39,3 / 60,7)
Alter (Jahre)	107	70,0 (58 ; 74)	65,9 (13,0)	
BMI (kg/m ²)	107	29,8 (26,0 ; 33,0)	29,5 (5,2)	
Klinische Charakteristika				
TEP Hüfte/Knie	107			66/41 (61,7 / 38,3)

BMI - Body-Mass-Index; IQR - Interquartilsabstand; SD - Standardabweichung; TEP - Totalendoprothese

Der Anteil der Patienten, die eine totale Endoprothese des Knies erhielten (N=41), lag entsprechend der Primärdiagnose einer Gonarthrose bei 38,3 %. Der Anteil der Patienten, die eine totale Endoprothese der Hüfte implantiert bekamen, betrug 61,7 % (66 Patienten), wobei 96 % dieser Patienten aufgrund einer Koxarthrose operiert wurden. 1 Patient wies eine Dysplasie-Koxarthrose auf, 2 weitere Patienten hatten eine Hüftkopfnekrose (siehe Tabelle 6). Während etwa gleich viele Männer und Frauen eine Hüftprothese erhielten, waren ungefähr drei Viertel der Patienten mit Knie-TEP Operationen Frauen. 84 der 107 Patienten hatten ein erhöhtes Gewicht, fast die Hälfte (N=52; 49,1 %) wiesen eine manifeste Adipositas (BMI \geq 30 kg/m²) auf. Um anamnestische Faktoren zu identifizieren, die eventuell Einfluss auf die HIT-Antikörper Serokonversionsraten haben, wurden weitere dokumentierte Komorbiditäten der Patienten erfasst. Diese sind in Tabelle 6 gelistet. Im Allgemeinen lagen die Prävalenzen der spezifischen Erkrankungen im Rahmen epidemiologischer Daten einer Normalpopulation (vgl. Diskussion).

Tabelle 6 - Primärdiagnose und Komorbiditäten entsprechend orthopädischem Eingriff

	alle Patienten N=107	Hüft-TEP N=66	Knie-TEP N=41
Demographische Daten			
Geschlecht, weiblich, N (%)	42 (39,3)	32 (48,5)	10 (24,4)
Alter, Jahre Median (IQR) [Range]	70 (58 ; 74) [24 – 86]	70 (56 ; 73) [24 – 86]	70 (64 ; 75,0) [27 – 85]
BMI, kg/m ² Median (IQR) [Range]	29,8 (26,0 ; 33,0) [17,0 – 43,1]*	29,2 (25,6 ; 32,3) [17,0 – 42,6]	30,2 (27,0 ; 33,1) [20,0 – 43,1]*
Übergewicht (25 ≤ BMI < 30), kg/m ² N (%)	32 (30,2)	21 (31,8)	11 (27,5)
Adipositas (BMI ≥ 30), kg/m ² N (%)	52 (49,1)	30 (45,5)	22 (55)
Primärdiagnose (N=107)			
Koxarthrose, N (%)	63 (58,9)	63 (95,5)	0
Dysplasie-Koxarthrose, N (%)	1 (0,9)	1 (1,5)	0
Hüftkopfnekrose, N(%)	2 (1,9)	2 (3,0)	0
Gonarthrose, N (%)	41 (38,3)	0	41 (100,0)
Komorbiditäten			
Atemwegserkrankungen			
Obstruktives Schlafapnoesyndrom, N (%)	1 (0,9)	1 (1,5)	0
COPD [§] , N (%)	4 (3,7)	2 (3,0)	2 (4,9)
Asthma, N (%)	9 (8,4)	6 (9,1)	3 (7,3)
Bronchitis, N (%)	1 (0,9)	00	1 (2,4)
Total [§] , N (%)	15 (14,0)	9 (13,6)	6 (14,6)
Autoimmunerkrankungen, N (%)			
Rheumatoide Arthritis, N (%)	8 (7,5)	3 (4,5)	5 (12,2)
Psoriasis, N (%)	1 (0,9)	1 (1,5)	0
Myasthenia gravis, N (%)	1 (0,9)	0	1 (2,4)
Total, N (%)	10 (9,3)	4 (6,1)	6 (14,6)
Alkoholabusus			
Alkoholabusus, N (%)	1 (0,9)	1 (1,5)	0
Chronisch-entzündliche Erkrankungen			
Psoriasisarthritis, N (%)	3 (2,8)	2 (3,0)	1 (2,4)
Polyarthritis, N (%)	3 (2,8)	2 (3,0)	1 (2,4)
M. Bechterew, N (%)	2 (1,9)	2 (3,0)	0
Total, N (%)	8 (7,5)	6 (9,1)	2 (4,9)
Endokrine und metabolische Störungen			
Diabetes mellitus insulinpflichtig, N (%)	5 (4,7)	4 (6,1)	1 (2,4)
Diabetes mellitus nicht-insulinpflichtig, N (%)	8 (7,5)	5 (7,6)	3 (7,3)
Hypothyreose, N (%)	11 (10,3)	6 (9,1)	5 (12,2)
Hyperthyreose, N (%)	2 (1,9)	2 (3,0)	0

Akromegalie, N (%)	1 (0,9)	1 (1,5)	0
Thyreoidektomie, N (%)	2 (1,9)	2 (3,0)	0
Total, N (%)	29 (27,1)	20 (30,3)	9 (22,0)
Erkrankungen der Kochen und des Skelettsystems			
Osteoporose, N (%)	2 (1,9)	2 (3,0)	0
Herz-Kreislaufferkrankungen			
arterielle Hypertonie, N (%)	52 (48,6)	28 (42,4)	24 (58,8)
pAVK, N (%)	3 (2,8)	2 (3,0)	1 (2,4)
Aortenklappenersatz, N (%)	1 (0,9)	1 (1,5)	0
Koronare Herzerkrankung, N (%)	5 (4,7)	2 (3,0)	3 (7,3)
Kardiomyopathie, N (%)	1 (0,9)	0	1 (2,4)
Herzrhythmusstörung, N (%)	1 (0,9)	1 (1,5)	0
Herzinsuffizienz, N (%)	1 (0,9)	1 (1,5)	0
Myokardinfarkt, N (%)	1 (0,9)	1 (1,5)	0
Klappeninsuffizienz, N (%)	1 (0,9)	0	1 (2,4)
Carotisstenose, N (%)	2 (1,9)	2 (3,0)	0
Herzschrittmacher, N (%)	1 (0,9)	1 (1,5)	0
Vorhofflimmern, N (%)	1 (0,9)	0	1 (2,4)
Total, N (%)	70 (65,4)	39 (59,1)	31 (75,6)
Neurologische Erkrankung			
Migräne, N (%)	1 (0,9)	1 (1,5)	0
Apoplex, N (%)	2 (1,9)	1 (1,5)	1 (2,4)
Total, N (%)	3 (2,8)	2 (3,0)	1 (2,4)
Psychische Störung			
Depression, N (%)	3 (2,8)	2 (3,0)	1 (2,4)

**) N=106, alle Patienten, N=40, Knie-TEP-Patienten; §) Angabe Total bezogen auf Häufigkeit der Diagnosen einer Krankheitsgruppe (mehrere Diagnosen pro Patient möglich); COPD - Chronisch obstruktive Lungenerkrankung; pAVK - periphere arterielle Verschlusskrankheit; BMI - Body-Mass-Index; IQR - Interquartilsabstand; TEP - Totalendoprothese*

Für einige Krankheitsbilder (z.B. Migräne, Depressionen) erscheint eine unvollständige Dokumentation der Krankheitsgeschichte wahrscheinlich. Die Blutentnahme zur Bestimmung postoperativer Parameter erfolgte zwischen dem 5. und dem 10. Tag nach dem Eingriff (Median: 7).

Um den potentiellen Einfluss des inflammatorischen Status der Patienten auf die Bildung von anti-PF4/Heparin-Antikörpern abzuschätzen, wurden als systemische Entzündungsparameter die Serumkonzentration von C-reaktivem Protein (CRP) sowie die Leukozytenzahl im Blut prä- und postoperativ bestimmt. Der Mittelwert der präoperativen CRP-Konzentrationen aller 107 Patienten war leicht erhöht, der Median normwertig (normal: < 6 mg/l) (siehe Tabelle 7).

Der Unterschied von Mittelwert und Median reflektiert den Trend zu erhöhten CRP Basalwerten bei einigen Patienten (CRP \geq 6 mg/l: N=32) (siehe Abbildung 3, Panel A). Nach TEP-OP (Tag 5-10) stieg der Median der CRP-Serumkonzentration um das 12-fache auf 42,5 mg/l, wobei Patienten, deren CRP-Bestimmung zu einem späteren Beobachtungstag erfolgte, niedrigere Konzentrationen dieses Akute-Phase-Proteins aufwiesen (siehe Abbildung 3, Panel B). Die höchsten CRP-Konzentrationen traten nach ca. 1 Woche auf, wobei zu beachten ist, dass es sich nicht um Verlaufsdaten der individuellen Patienten, sondern um Einzelwerte, die bei verschiedenen Patienten zu verschiedenen Zeitpunkten erhoben wurden, handelte. Patienten mit erhöhten CRP-Basalwerten waren nicht zwangsläufig jene mit den höchsten postoperativen Werten. Von 26 Patienten mit CRP-Basalkonzentrationen oberhalb des 3. Quartils hatten nur 7 Patienten postoperative Werte oberhalb dieses Quartils.

Tabelle 7 - CRP-Konzentration vor und nach der TEP

	CRP prä-OP (mg/l)	CRP post-OP (mg/l)	Anstieg CRP (x-fach)	P-Wert
Mittelwert (SD)	7,5 (11,3)	54,6 (40,6)	26,5 (59,3)	< 0,0001*
95% CI	5,32 - 9,65	46,83 - 62,38	15,17 - 37,91	
Median (IQR)	3,6 (1,4 ; 7,5)	42,5 (28,3 ; 69,3)	12,2 (5,1 ; 29,1)	< 0,0001**
Min/Max	0,3 ; 65,3	6,8 ; 227,1	0,6 ; 567,8	

95% CI, 95% Konfidenzintervall; CRP - C-reaktives Protein; IQR - Interquartilsabstand; Min/Max - Minimum/Maximum; SD - Standardabweichung; TEP - totale Endoprothese; (*gepaarter t-Test; **gepaarter Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test)

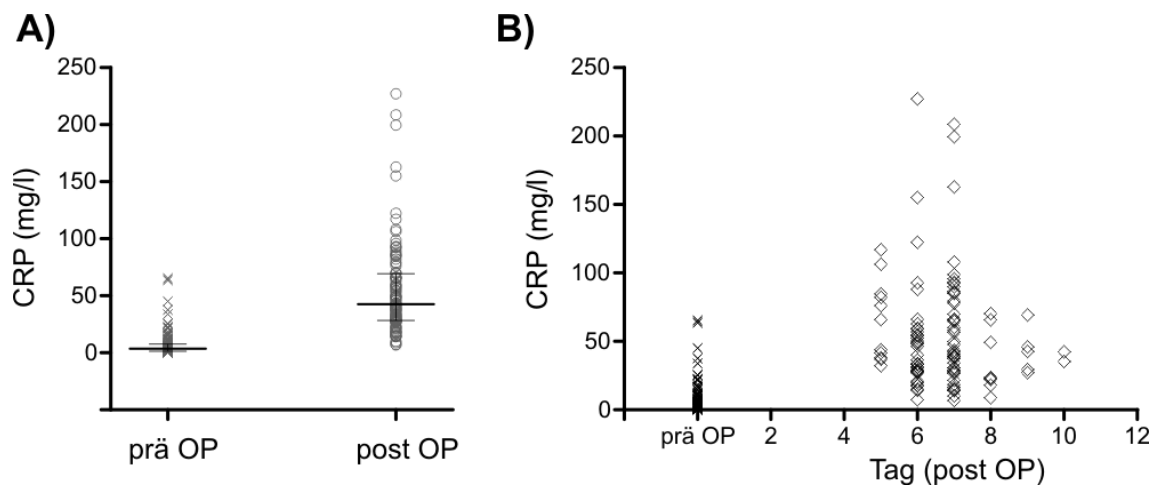


Abbildung 3: Prä- und postoperative CRP-Konzentration. A) Streudiagramm und Median mit Interquartilsabstand. B) Streudiagramm mit postoperativen Werten separiert nach Tag der Erhebung.

Die Leukozytenzahl zeigte keinen signifikanten Unterschied der prä- und postoperativen Werte (siehe Tabelle 8). 11 Patienten hatten eine erhöhte präoperative Anzahl von Leukozyten (Normbereich: $4 - 10 \times 10^9/l$), bei 10 dieser Patienten normalisierten sich die Werte postoperativ (siehe Abbildung 4, Panel A). Prä-OP CRP Werte korrelierten signifikant mit der Leukozytenzahl (Korrelation nach Pearson $r=0,2706$; $P=0,0048$), ein Zusammenhang, der postoperativ nicht mehr zu beobachten war ($r=0,1609$; $P=0,0978$). Weder bei Patienten mit erhöhten CRP-Werten noch bei jenen mit erhöhter Leukozytenzahl konnte eine offensichtliche Assoziation mit den dokumentierten Komorbiditäten ausgemacht werden.

Tabelle 8 - Leukozytenzahl vor und nach TEP

	Leukozytenzahl prä-OP ($\times 10^9/l$)	Leukozytenzahl post-OP ($\times 10^9/l$)	Anstieg (x-fach)	P-Wert
Mittelwert (SD)	7,4 (2,1)	7,4 (1,9)	1,0 (0,3)	0,9506*
95% CI	6,99 – 7,81	7,05 – 7,77	0,99 – 1,09	
Median (IQR)	7,2 (5,8 ; 8,5)	7,3 (5,8 ; 8,8)	1,0 (0,9 ; 1,2)	0,5875**
Min/Max	4,2 ; 17,8	4,2 ; 12,5	0,4 ; 1,8	

95% CI, 95% Konfidenzintervall; IQR - Interquartilsabstand; Min/Max - Minimum/Maximum; SD - Standardabweichung; TEP - totale Endoprothese; (*gepaarter t-Test; **gepaarter Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test)

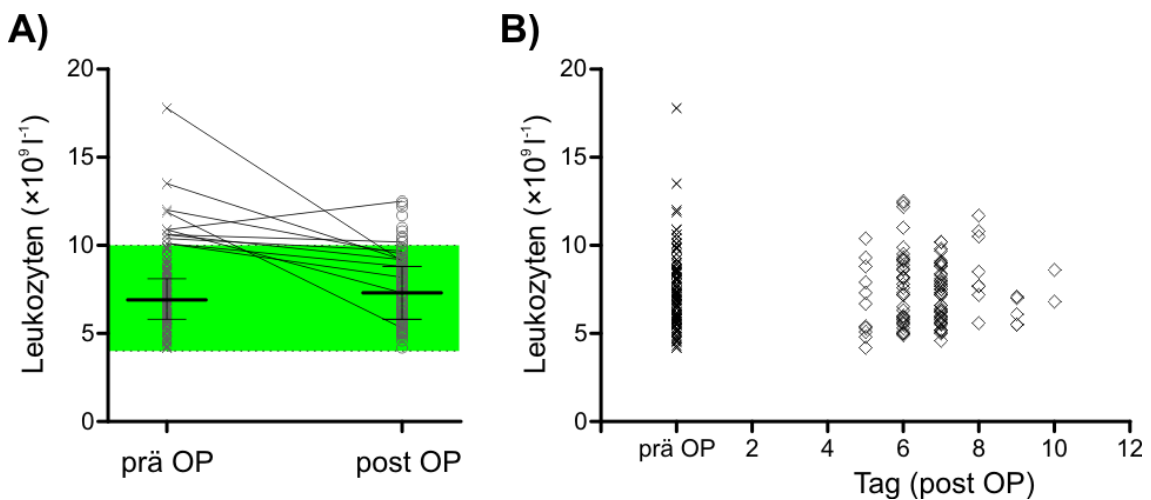


Abbildung 4: Prä- und postoperative Leukozytenzahl. A) Streudiagramm und Median mit Interquartilsabstand. Datenpaare von Patienten mit präoperativen Leukozytenwerten über dem Normbereich (dargestellt in grün) sind durch Linien verbunden. B) Streudiagramm mit postoperativen Werten separiert nach Tag der Erhebung.

3.2 HIT – assoziierte Analyse

Die HIT-assozierte Analyse umfasste den immunologischen Nachweis von HIT-Antikörpern mittels ELISA, den HIPA-Assay zur Bestimmung der funktionellen Aktivität von anti-PF4/Heparin-Antikörpern sowie die Bestimmung der Thrombozytenzahl zum Nachweis einer Thrombozytopenie.

Der Mittelwert der Optischen Dichte (OD) des gesamten Patientenkollektivs zeigte keinen Anstieg der HIT-assozierten Antikörper im ELISA (OD prä-OP: $0,038 \pm 0,094$; post-OP: $0,034 \pm 0,084$; Tabelle 9 und Abbildung 5, Panel A).

Tabelle 9 - HIT ELISA vor und nach TEP

	HIT ELISA prä-OP (OD)	HIT ELISA post-OP (OD)	Anstieg (x-fach)*	Anstieg (delta)	P-Wert
Mittelwert (SD)	0,038 (0,094)	0,034 (0,084)	1,062 (1,911)	-0,004 (0,049)	0,4534*
95% CI	0,020 – 0,056	0,018 – 0,050	0,555 – 1,569	-0,013 – 0,006	
Median (IQR)	0,01 (0 ; 0,04)	0,01 (0 ; 0,03)	0,67 (0,10 ; 1,13)	0 (-0,01 ; 0,01)	0,4353**
Min/Max	0 ; 0,81	0 ; 0,72	0 ; 13,00	-0,23 ; 0,20	

**) 50 Patienten aufgrund eines Basalwerts von Null ausgeschlossen, ansonsten N=107; 95% CI, 95% Konfidenzintervall; ELISA - enzyme-linked immunosorbent assay; IQR - Interquartilsabstand; Min/Max - Minimum/Maximum; OD - Optische Dichte; SD - Standardabweichung; TEP - totale Endoprothese; (*gepaarter t-Test; **gepaarter Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test)*

Ebenso zeigte keiner der 107 Patienten im ELISA eine operationsbedingte postoperative Serokonversion, die der Definition des Herstellers für einen positiven Befund entsprach ($OD \geq 0,5$). Wenn man der Auswertung den häufig für verschiedene anti-PF4/Heparin-Antikörper-Assays genutzten Grenzwert einer OD von $\geq 0,4$ zugrunde legt^{156,157}, der allerdings im Bereich von 0.4–1.0 nur einen schwachen prädiktiven Wert für einen positiven funktionellen Assay hat (≤ 5 – $12,3$ %)^{156,158,159,160}, wurde ein Patient (0,93 %; Pat. ID 140) positiv getestet (post-OP OD: 0,72). Dieser Patient wies allerdings bereits präoperativ eine erhöhte Extinktion (prä-OP OD: 0,81) auf (siehe Tabelle 11).

Um zu testen, ob die prä- und postoperativ gemessenen Extinktionen auf eine eventuell bestehende Präimmunisierung, z.B. durch frühere bakterielle Infektionen^{27,29}, zurückzuführen sind oder ob die Messwerte auf Variabilitäten im Assay bzw. auf Unterschieden in der Präanalytik basieren, wurden die prä- und postoperativen ODs in einem Korrelationsdiagramm gegeneinander aufgetragen (siehe Abbildung 5, Panel B). Diese Kontrolle zeigte einen klaren, hochsignifikanten Zusammenhang der perioperativen Datenpaare, sodass analytische Fehler weitestgehend ausgeschlossen werden können (Korrelation nach Pearson, $N=44$, $r=0,8834$, $P<0,0001$). Sowohl die Mittelwerte der Extinktion des prä- als auch des postoperativen ELISA waren signifikant kleiner als die vom Hersteller des Assays zur Verfügung gestellten Referenzwerte (basierend auf 72 als normal vorausgesetzten Humanplasmen) (siehe Abbildung 5, Panel C). Es gilt zu beachten, dass ein Vergleich der in dieser Studie ermittelten Werte mit den Referenzwerten des Herstellers aufgrund unterschiedlicher Assay-Chargen und variierender Testbedingungen nur bedingt Gültigkeit hat. Legt man aber diese Referenz zugrunde, um die individuellen Messwerte der Studienteilnehmer zu standardisieren, lag wiederum nur Patient 140 außerhalb von 2 Standardabweichungen (SDS, engl.: standard deviation score) im Vergleich zum Mittelwert der „Normalpopulation“ (z-Scores prä-OP: 7,65 SDS, post-OP: 6,60 SDS).

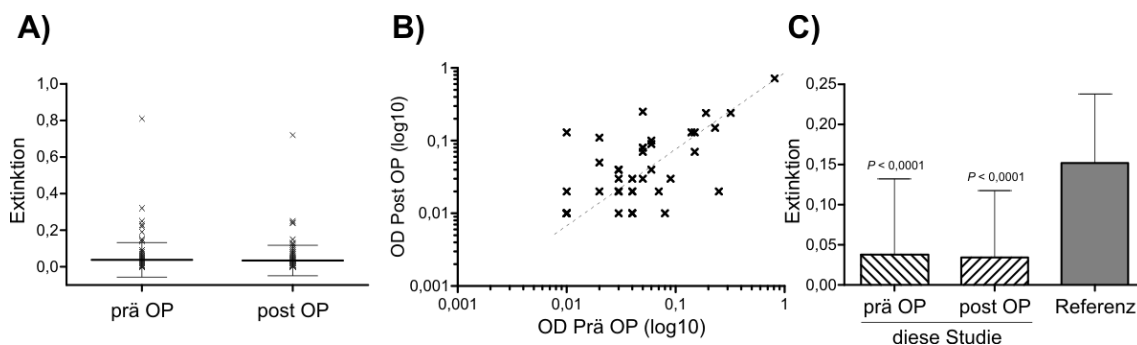


Abbildung 5: PF4/Heparin ELISA A) Streudiagramm mit Mittelwert und Standardabweichung. B) Prä- versus post-OP Extinktionswerte (nur Datenpaare, bei denen keiner der Einzelwerte gleich Null war, sind abgebildet; N=44). Zu Visualisierungszwecken beide Achsen als log₁₀ Funktion dargestellt; die (bei linearer Achsendarstellung lineare) Regressionslinie (schraffiert) wurde entsprechend angepasst.¹ C) Balkendiagramm mit Mittelwert und Standardabweichung; Referenz: Normalpopulation des Herstellers zum ELISA Asserachrom ® HPIA (siehe Text). P-Werte im Vergleich zur Referenz.

Das Ergebnis der funktionellen Plättchenaktivierungstests (HIPA) ergab keinen Hinweis auf das Vorliegen von HIT-Antikörpern. Keine Patientenprobe zeigte in der prä- oder postoperativen HIPA-Bestimmung ein positives Ergebnis. 20 der 107 Patienten (18,7 %) waren in wenigstens einem der beiden HIPA Assays (prä- und post-OP) in einer von 2 bzw. 2 von 4 Zellen positiv, per definitionem handelt es sich hierbei um ein negatives Gesamtergebnis. Diese 20 Patienten wurden nochmals einem unabhängigen ELISA-Assay unterzogen, alle Ergebnisse waren negativ. Die prä- und postoperativen HIPA-Assays von Patient 140, der moderat erhöhten Extinktionen im PF4/Heparin ELISA aufwies, waren negativ.

Ein wesentliches Merkmal der HIT ist eine Thrombozytopenie, die in der Regel als absoluter Abfall der Thrombozytenzahl auf $<150 \times 10^9/l$ oder relativer Rückgang um 30–50 % definiert wird¹⁶¹. In der vorliegenden Studie waren die Thrombozytenzahlen postoperativ gegenüber präoperativ im Median wie im Mittel leicht, aber signifikant erhöht (siehe Tabelle 10). Allerdings hatte keiner der Patienten eine Thrombozytose ($> 500 \times 10^9/l$). 6 Patienten wiesen vor oder nach OP Thrombozytenzahlen $< 150 \times 10^9/l$ auf, 4 Patienten vor, 1 Patient nach und 1 Patient zu beiden Beobachtungszeitpunkten. 2 Patienten hatten einen moderaten Abfall der Thrombozytenzahl um 31,2 bzw. 32,4 % (siehe Tabelle 11).

¹ $Y = 10^{(1,052 \times \log(X) + (-0,06753))}$

Tabelle 10 - Thrombozytenzahl vor und nach einer Totalendoprothese

	Thrombozyten-zahl prä-OP ($\times 10^9/l$)	Thrombozyten-zahl post-OP ($\times 10^9/l$)	Veränderung (%)	P-Wert
Mittelwert (SD)	256 (59,6)	296 (79,7)	18,4 (33,9)	< 0,0001*
95% CI	245 – 268	281 – 311	11,8 – 24,8	
Median (IQR)	255,0 (220 ; 287)	294,0 (235 ; 350)	14,9 (-3,7 ; 34,5)	< 0,0001**
Min/Max	125 ; 461	139 ; 497	-31,2 ; 220,0	

95% CI, 95% Konfidenzintervall; IQR, Interquartilsabstand; Min/Max, Minimum/Maximum; SD, Standardabweichung; TEP, totale Endoprothese; (*gepaarter t-Test; **gepaarter Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test)

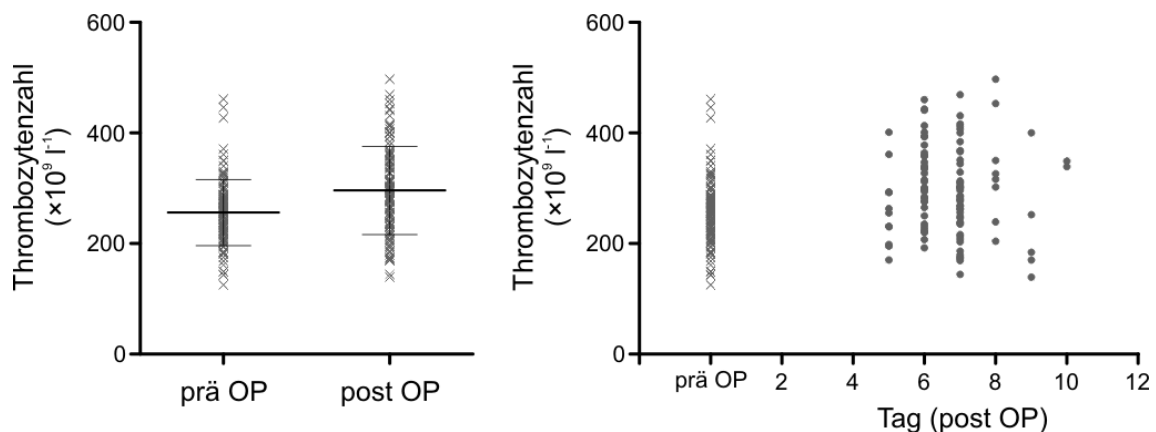


Abbildung 6: Prä- und postoperative Thrombozytenzahl. A) Streudiagramm und Mittelwert mit Standardabweichung. B) Streudiagramm mit post-OP Werten separiert nach Tag der Erhebung.

Zusammenfassend zeigten sich bei den Patienten weder laboranalytisch noch klinisch Hinweise auf das Vorliegen einer HIT. Obwohl 6 Patienten eine milde Thrombozytopenie (4 präoperativ, 1 postoperativ, 1 prä- und postoperativ) und 2 Patienten einen Thrombozytenabfall > 30% aufwiesen, rechtfertigt das individuelle Gesamtbild nach Bestimmung der Vortest-Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer HIT im 4Ts Score keine klinische HIT Diagnose (siehe Tabelle 11). Besonders zu erwähnen ist ein Patient (ID 140) mit grenzwertig auffälligen Extinktionswerten im prä- und post-OP PF4/Heparin ELISA (post-OP

erhoben an Tag 7) gemeinsam mit einer moderat erniedrigten Thrombozytenzahl (144/nl), jedoch ohne signifikanten Thrombozytenabfall (11%), negativen prä- und postoperativen HIPA und fehlenden klinischen Zeichen für eine thromboembolische Komplikation. Der Patient wurde fälschlicherweise in die Studie eingeschlossen, obwohl er bereits präoperativ einen leicht positiven ELISA aufwies. Im Vergleich zur präoperativen OD (0.81) kam es postoperativ auch nicht zu einem weiteren Anstieg (0.72).

Tabelle 11 - Patienten mit auffälligen HIT-assoziierten Parametern

Pat. ID [Tag post]#	ELISA prä-OP (OD)	ELISA post-OP (OD)	HIPA	Thrombozytenzahl prä-OP ($\times 10^9/l$)	Thrombozytenzahl post-OP ($\times 10^9/l$)	Thrombozytenzahl Änderung (%)
1 [6]	0,01	0,00	neg.	279	192	-31,2
22 [7]	0,01	0,00	neg.	257	179	-30,4
29 [9]	0,06	0,09	neg.	149	139	-6,7
37 [10]	0,06	0,10	neg.	143	349	144,1
40 [9]	0,09	0,03	neg.	125	400	220,0
57*[6]	0,02	0,00	neg.	201	220	9,5
59 [7]	0,04	0,02	neg.	143	173	21,0
80 [6]	0,00	0,01	neg.	149	230	54,4
140 [7]	0,81	0,72	neg.	161	144	-10,6

Auffällige Werte sind fett dargestellt. Pat. 57 entwickelte postoperativ eine TVT; ELISA - enzyme-linked immunosorbent assay; HIPA - heparin-induced platelet activation assay; HIT - heparininduzierte Thrombozytopenie

3.3 Rivaroxabanassoziierte Analyse

Entsprechend den Einschlusskriterien der Studie erhielt keiner der Patienten im Rahmen der operativen Versorgung Heparin. Zur VTE – Prophylaxe erhielten die Patienten postoperativ nach Rücksprache und Anordnung des Operateurs täglich 1 x 10mg Rivaroxaban p.o.; diese Gabe wurde bis zur vollständigen Mobilisation in der anschließenden Rehabilitationsklinik weitergeführt.

Für keinen der Patienten war eine für diese Medikation kontraindizierte Komorbidität dokumentiert. Ein männlicher Patient wurde aufgrund eines 4 Jahre alten Aortenklappenersatzes engmaschig hinsichtlich möglicher Komplikationen überwacht, da die Verwendung von Rivaroxaban in diesem Fall „off - label“ war. Patienten mit einer Nierenfunktionsstörung können im Rahmen einer Bioakkumulation erhöhte Rivaroxaban-Plasmaspiegel aufweisen. Zur Abschätzung des damit verbundenen erhöhten Blutungsrisikos wurde für alle Patienten die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) bestimmt. Hierbei gab es keine signifikante Änderung der GFR vor und nach dem chirurgischen Eingriff, bezogen auf das gesamte Patientenkollektiv (siehe Tabelle 12 und Abbildung 7, Panel A). Entsprechend den Ausschlusskriterien der Studie hatte keiner der Patienten eine schwere Nierenfunktionsstörung, definiert als $GFR < 30$ ml/min (prä-OP Mittelwert: $85,2 \pm 21,4$ ml/min; Range: 41–137 ml/min). Eine 84-jährige Patientin (Pat. ID 58) zeigte eine altersgerechte präoperative GFR von 41 ml/min, die postoperativ auf 25 ml/min abfiel (siehe Tabelle 13).

Tabelle 12 - GFR und Hämoglobinkonzentration vor und nach einer Totalendoprothese

	prä-OP	post-OP	Veränderung (delta)	P-Wert
GFR (ml/min/1,73m²)				
Mittelwert (SD)	85 (21,4)	86 (22,7)	1,2 (12,4)	0,3062*
95% CI	81 – 89	82 – 91	-1,1 – 3,6	
Median (IQR)	84 (71 ; 98)	85 (72 ; 102)	0,0 (-5,0 ; 8,0)	0,3740**
Min/Max	41 ; 137	25 ; 144	-36 ; 30	
Hämoglobin (g/dl)				
Mittelwert (SD)	13,5 (1,4)	10,6 (1,4)	-2,9 (1,1)	< 0,0001*
95% CI	13,2 – 13,8	10,3 – 10,9	-3,1 – -2,7	
Median (IQR)	13,4 (12,4 ; 14,5)	10,4 (9,6 ; 11,8)	-2,8 (-3,8 ; -2,1)	< 0,0001**
Min/Max	9,9 ; 17,1	7,7 ; 14,0	-5,9 ; -0,3	

95% CI, 95% Konfidenzintervall; GFR - glomeruläre Filtrationsrate, IQR - Interquartilsabstand; Min/Max - Minimum/Maximum; SD - Standardabweichung; TEP - totale Endoprothese; (*gepaarter t-Test; **gepaarter Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test)

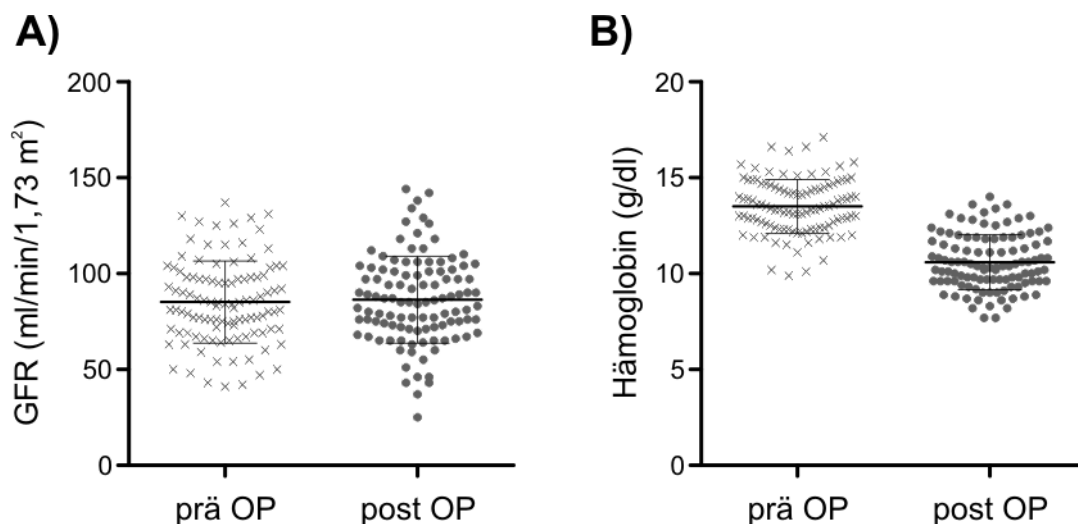


Abbildung 7: Prä- und postoperative GFR- und Hämoglobinwerte. A) GFR aller 107 Patienten dargestellt als Streudiagramm und Mittelwert mit Standardabweichung. B) Hb-Werte dargestellt als Streudiagramm und Mittelwert mit Standardabweichung.

Die Hämoglobinkonzentrationen fielen operationsbedingt im Durchschnitt um 2,9 g/dl von einem mittleren Ausgangswert von 13,5 g/dl (1,4 SD; Normalwert: 13–17 g/dl) auf 10,6 g/dl (1,4 SD) am Tag 1 nach OP (siehe Tabelle 12). Nach dem 1. postoperativen Tag erhielten 26 Patienten (24,3 %) eine (N=7; 6,5 %) oder zwei (N=19; 17,8 %) Gaben Eigenblut oder Erythrozytenkonzentrat. Hämoglobinbestimmungen nach dem 1. postoperativen Tag (Tag 2 bis Tag 10) zeigten einen kritischen Hb-Wert-Abfall von ≥ 2 g/dl bei 7 der 107 Patienten (6,5 %). Eine Major-Blutungskomplikation trat in keinem der Fälle auf. Die klinischen und serologischen Charakteristika dieser Patienten sind in Tabelle 13 zusammengefasst.

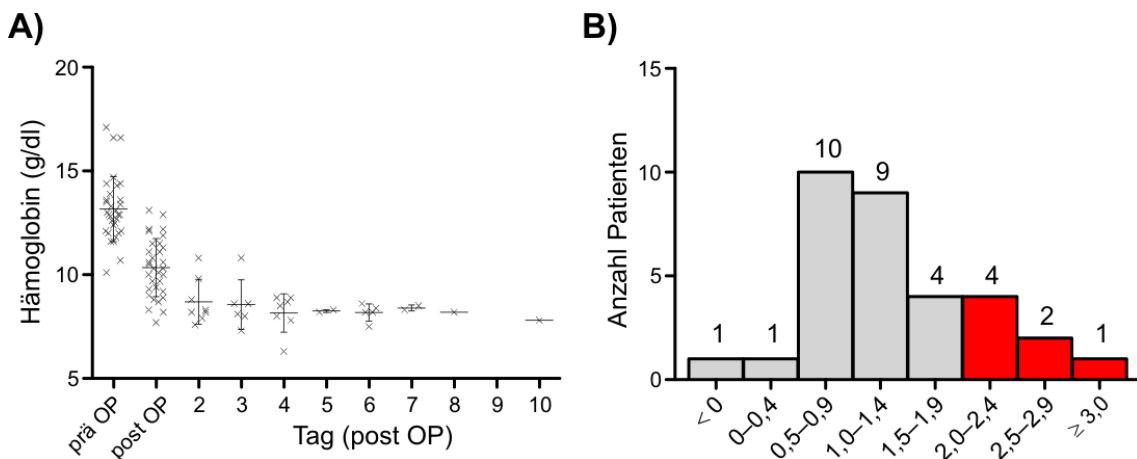


Abbildung 8: Hämoglobinwerte nach post-OP Tagen (Panel A),

Panel B) Patienten in Gruppen nach Höhe des Hb-Abfalls; rot markiert sind Patienten mit einem kritischen Hb-Wert-Abfall (≥ 2 g/dl)

Tabelle 13 - Klinische und serologische Charakteristika von Patienten mit einem Hämoglobinabfall über den 1. post OP Tag hinaus

	Pat. 45	Pat. 58	Pat. 59	Pat. 71	Pat. 73	Pat. 120	Pat. 134
Geschlecht	w	w	m	m	w	m	w
Alter (Jahre)	74	84	54	85	83	73	71
Kreatinin (mg/dl) §							
prä-OP	0,75	1,31	1,03	1,08	0,59	0,83	0,65
post-OP	0,78	2,03	1,04	1,53	0,59	0,79	0,61
GFR (ml/min/1,73m²) ‡							
prä-OP	81	41	80	69	104	97	96
post-OP	77	25	79	46	104	102	105
Hämoglobin (g/dl) #							
prä-OP	13,2	12,5	12,9	13,4	12,1	13,0	13,8
post-OP§	10,6	10,6	9,7	11,1	10,5	11,1	9,8
delta Hb1*	-2,6	-1,9	-3,2	-2,3	-1,6	-1,9	-4,0
Folgewert (Tag der BE)	8,6 (3)	8,5 (7)	6,3 (4)	8,3 (5)	8,5 (4)	8,3 (7)	7,8 (4)
delta Hb2*	-2,0	-2,1	-3,4	-2,8	-2,0	-2,8	-2,0
Transfusion	2xEK	–	2xEK	–	1xEK	–	2xEK
Komorbiditäten	–	aHT	(Z.n. Myokard- infarkt)	aHT, Hypo- thyreose	aHT, RA, (Z.n. LAE)	–	aHT

Werte mit einem kritischen Hb-Wert-Abfall (≥ 2 g/dl) sind grau hinterlegt dargestellt. (*delta Hb1, Hämoglobinabfall [post-OP – prä-OP]; delta Hb2, Hämoglobinabfall [Folgewert – post-OP], der Tag der Erhebung des Folgewertes ist in Klammern angegeben; §Tag 1 nach OP; §Kreatinin Norm (m): 0,81–1,44 mg/dl; Norm (w): 0,66–1,09 mg/dl; #Hämoglobin Norm (m): 14–18 g/dl; Norm (w): 12–15 g/dl ‡Bei Patienten mit einer Kreatinin-Clearance von 15–29 ml/min ist Rivaroxaban (Xarelto) mit Vorsicht anzuwenden. Die Anwendung bei Patienten mit einer Kreatinin-Clearance < 15 ml/min wird nicht empfohlen¹⁵¹.)

aHT - arterielle Hypertonie; BE - Blutentnahme; EK - Erythrozytenkonzentrat; GFR - glomeruläre Filtrationsrate; Hb - Hämoglobin; LAE - Lungenarterienembolie; RA - rheumatoide Arthritis

3.4 Klinische Ergebnisse und Komplikationen

Keiner der untersuchten Patienten zeigte postoperativ das klinische Bild einer akuten HIT. Eine 72-jährige, adipöse Patientin (ID 57), die aufgrund einer Gonarthrose eine Kniegelenkendoprothese erhalten hatte, entwickelte am 3. postoperativen Tag eine tiefe Beinvenenthrombose. Die Patientin litt an chronisch obstruktiver Lungenerkrankung, rheumatoider Arthritis, koronarer Herzerkrankung und arterieller Hypertonie. Die Adipositas war mit einem BMI von 35,9 kg/m² ausgeprägt (Grad II). Der 4Ts-Score der Patientin lag aufgrund des Fehlens einer Thrombozytopenie oder eines Thrombozytenabfalls bei 2 Punkten und war somit nicht verdächtig für eine HIT¹⁰⁷. Weitere klinische und serologische Charakteristika der Patientin sind in Tabelle 14 zusammengefasst. Für keinen weiteren Patienten wurden erhebliche postoperative Komplikationen berichtet. Ebenso wies keiner der Patienten einen intermediären bis hohen 4Ts-Score (4-8 Punkte) auf.

Tabelle 14 - Klinische und serologische Charakteristika der Patientin mit postoperativer TVT

	Patient 57		Normbereich
	vor OP	nach OP	
Geschlecht	Weiblich		
Alter (Jahre)	72		
BMI (kg/m ²)	35,9		< 25
Tag Blutentnahme post-OP	6		
serologische Parameter			
CRP (mg/l)	10,7	52,3	< 6
Leukozytenzahl (×10 ⁹ /l)	6,9	5,0	4 – 10
Hämoglobin (g/dl)	13,5	Tag 1: 10,3 Tag 4: 8,9	(12 – 16)*
Kreatinin (mg/dl)	1,13	0,91	0,66 – 1,09
GFR (ml/min/1,73m ²)	50	65	35 – 60

	Patient 57		Normbereich
	vor OP	nach OP	
HIT-assoziierte Parameter			
PF4/Heparin ELISA (OD)	0,04	0,02	< 0,4
HIPA	Negativ	Negativ	Negativ
Thrombozytenzahl ($\times 10^9/l$)	201	220	150 – 400

Relevante pathologische Werte sind fett dargestellt. (*Der Hb-Normbereich ist aufgrund des operativen Eingriffs nur bedingt anwendbar. Der Hb-Verlust von Tag 1 zu Tag 4 betrug $\geq 2,0$ g/dl und erforderte keine Transfusion.) BMI - body-mass-index; CRP - C-reaktives Protein; ELISA - enzyme-linked immunosorbent assay; GFR - glomeruläre Filtrationsrate; HIPA - heparin-induced activation assay; HIT - heparininduzierte Thrombozytopenie; OD - optische Dichte; PF4 - Plättchenfaktor 4; TVT - tiefe Venenthrombose

4. Diskussion

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Inzidenz autoimmuner HIT-Antikörper (Serokonversion) nach großen orthopädischen Eingriffen, bei denen die Thromboseprophylaxe heparinunabhängig durch den direkten oralen Faktor Xa Inhibitor Rivaroxaban erfolgte, zu ermitteln. Darüber hinaus sollten gegebenenfalls bei Entwicklung einer klinischen aHIT deren Inzidenz und deren klinische Charakteristika bestimmt werden.

Die Studie umfasste 107 Teilnehmer, deren klinische und demographische Parameter repräsentativ für Patientenkollektive waren, die aufgrund einer Koxarthrose oder Gonarthrose einer totalen Gelenkersatzoperation unterzogen wurden. So waren insbesondere die Häufigkeiten der Risikofaktoren für eine totale Gelenkersatzoperation – weibliches Geschlecht, hohes Alter und hoher BMI – sowie bekannte Komorbiditäten – Diabetes, Apoplex und Herz-Kreislauf-Erkrankungen – vergleichbar mit bereits publizierten Daten¹⁶². Insbesondere die Prävalenz adipöser Probanden (beschrieben als Body-Mass-Index $\geq 30\text{kg/m}^2$) lag dabei in der vorliegenden Studie sowohl bei den Männern (40,5 %) als auch bei den Frauen (54,7 %) deutlich über dem Durchschnitt der hinsichtlich Altersstruktur vergleichbaren Normalpopulation in Deutschland (adipöse Männer, 60–79 Jahre: 33,1–31,3 %; adipöse Frauen, 60–79 Jahre: 34,8–41,6 %)¹⁶³. Übergewicht und Adipositas sind andererseits typische Charakteristika von Arthrosepatienten mit Gelenkersatz OP; sie waren in der vorliegenden Studie den Werten aus vergleichbaren Patientengruppen ähnlich (z.B. Knie-TEP, diese Studie Mittelwert BMI $30,2 \pm 4,7\text{kg/m}^2$; vs. Turpie et al. : $30,9 \pm 6,2\text{kg/m}^2$; Franklin et al. $29,6 \pm 5,9\text{kg/m}^2$)^{162,164}.

Als primäres Ergebnis der Studie konnte weder in den durchgeführten ELISA- noch in den funktionellen HIPA-Tests eine OP-assoziierte, heparinunabhängige Serokonversion mit Bildung von anti-PF4/Heparin-Antikörpern nachgewiesen werden. Der verwendete ELISA-Test Asserachrom® HPIA-IgG Test basierte dabei auf der Detektion gegen die für die HIT relevanteren anti-PF4/Heparin-Komplex gerichteten IgG-Antikörper^{11,158}. Dieser monovalente ELISA hat im Vergleich mit dem polyvalenten ELISA und Detektion von anti-PF4/Heparin-IgG/-IgM/-IgA-Antikörpern bei ähnlich hoher Sensitivität eine höhere Spezifität und Testgenauigkeit^{165,166}. Dennoch haben Immunoassays eine geringere Spezifität

als funktionelle Assays (z.B. HIPA)^{109,153}, da diese nur anti-PF4/Heparin-Antikörper und nicht auch andere plättchenaktivierende Antikörper (z. B. Interleukin-8, Neutrophil-activating Peptid 2) erkennen^{160,167}. Wie in Abschnitt 3.2 beschrieben, wurde ein Patient fälschlicherweise in die Studie eingeschlossen. Ansonsten zeigte der PF4/Heparin ELISA in keinem Fall, prä- oder postoperativ, ein positives Ergebnis, das im Sinne einer Serokonversion zu werten wäre (postoperativ OD $\geq 0,4$)¹⁶⁵. Im Median des Patientenkollektivs zeigte sich kein Anstieg der OD nach OP verglichen mit dem präoperativen Basalwert^{114,156,168}. Zwar entsprach die postoperative Extinktion bei einem Patienten einem prozentualen Anstieg von 1,2 %, allerdings bei immer noch sehr niedriger und unterhalb des Cut-off liegenden OD des postoperativen Wertes (OD präoperativ: 0,01; postoperativ: 0,13). Der größte absolute Anstieg der postoperativen Extinktion wurde mit 0,2 OD bei einem anderen Patienten gefunden (OD präoperativ: 0,05; postoperativ: 0,25). Ausnahmslos negativ waren die entsprechenden Ergebnisse des HIPA, sowohl bei diesem, und bei allen anderen Patienten. Auch bei den Patienten mit diskretem Thrombozytenabfall oder postoperativer Thrombose ergab sich im 4Ts Score keine erhöhte Vortest-Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer klinischen HIT.

Während der zugrundeliegende Pathomechanismus und die Epidemiologie der „klassischen“ heparininduzierten Serokonversion nach einer Heparinexposition, insbesondere im Rahmen von orthopädischen Eingriffen gut untersucht sind (siehe Abschnitt 1.3)^{1,48,169,170}, ist das Phänomen der heparinunabhängigen Bildung von anti-PF4/Heparin-Antikörpern noch nicht vollständig verstanden. Interessanterweise wurden die meisten Fälle eines heparinunabhängigen, spontanen HIT Syndroms bei Patienten mit vorangegangenen orthopädischen Eingriffen, z.B. totalen Knie- oder Hüftgelenkersatzoperationen, beschrieben^{62,76,157,171,172}. Als Thromboseprophylaxe kamen dabei als Vergleichssubstanzen zu UFH und NMH das synthetische Pentasaccharid Fondaparinux^{76,157,172}, der direkte orale Faktor Xa-Inhibitor Edoxaban¹⁷¹ sowie mechanische Maßnahmen zur Thromboseprophylaxe^{157,172} zum Einsatz. Vergleichbare Studien mit Rivaroxaban existieren bislang nicht. Warkentin et al. fanden bei 753 Knie-TEP- und 1973 Hüft-TEP Patienten aus der PENTAMAKS und PENTATHLON Studie^{173,174}, die zur postoperativen Thromboseprophylaxe entweder Enoxaparin oder Fondaparinux erhalten hatten, ähnliche

Serokonversionsraten zwischen Enoxaparin und Fondaparinux (Knie-TEP Gruppe: IgG: 1,4 % und 1,3 %; IgG, IgA, IgM: 5,2 % und 2,8 %; Hüft-TEP Gruppe: IgG: 0,1 % und 0,4 %; IgG, IgA, IgM: 1,1 % und 1,5 %) ohne dass signifikante Unterschiede zwischen Patienten mit Enoxaparin- oder Fondaparinux-Prophylaxe⁷⁶ vorlagen. Es zeigte sich somit für Enoxaparin und für Fondaparinux eine vergleichbare Immunogenität in Bezug auf die Bildung von HIT-Antikörpern. Ähnliche Serokonversionsraten zwischen NMH und Fondaparinux wurden in zwei europäischen Patientengruppen (EPHESUS-Studie)¹⁷⁵ mit elektiver Hüft-TEP nachgewiesen (Enoxaparin: 3,4 %; Fondaparinux: 4,7 %), bzw. nach Hüftfraktur (PENTHIFRA¹⁷⁶; Enoxaparin: 2,5 %; Fondaparinux 3,9 %)¹⁷⁷. Die Serokonversionsraten unter postoperativer Thromboseprophylaxe mit Edoxaban in der Studie von Izumi et al., in der vergleichend Arthrose (OA) und rheumatoide Arthritis (RA) bei 124 Patienten mit Knie-TEP analysiert wurden, betragen jeweils 25,5 % und 4 %¹⁷¹.

Eine von Bito et al. durchgeführte Studie verwendete zur anti-PF4/Heparin-Antikörperbestimmung einen polyvalenten ELISA (Asserachrom HPIA, IgG, IgA, IgM; Diagnostica Stago, Asnières-sur-Seine, France)¹⁵⁷. Die Serokonversionsrate lag bei Patienten mit Knie-TEP (N=1244) bzw. Hüft-TEP (N=825) (beide Gruppen ohne gleichzeitige mechanische Thromboseprophylaxe) unter UFH-Prophylaxe bei 14,8 % (Knie-TEP) bzw. 0 % (Hüft-TEP), unter NMH-Prophylaxe bei 13,7 % bzw. 0 %, unter Fondaparinux-Prophylaxe bei 5,7 % bzw. 0 % und ohne Antikoagulation bei 6,5 % bzw. 4,6 %. Unter gleichzeitiger Anwendung von dynamisch-mechanischer Thromboseprophylaxe (DMT; primärer Endpunkt: Einfluss der DMT auf die Serokonversion) wurden Serokonversionsraten von 14,8 % (Knie-TEP) bzw. 9,7 % (Hüft-TEP) bei Prophylaxe mit UFH, 14,5 % bzw. 6,7 % mit NMH, 21,3 % bzw. 14,5 % mit Fondaparinux und 15,4 % bzw. 9,1 % ohne jegliches Antikoagulans gefunden.

Wie lässt sich die in unserer Arbeit gefundene operationsbedingte Serokonversionsrate von 0% in das Spektrum der zuvor erwähnten publizierten Daten einordnen? Basierend auf den nur lückenhaft publizierten demographischen und klinischen Daten der untersuchten Patientengruppen in den oben genannten epidemiologischen Studien zur Serokonversion kann von einer Vergleichbarkeit der anamnestischen Basalwerte ausgegangen werden.

Verschiedene Faktoren, die Einfluss auf das Risiko einer operationsbedingten Serokonversion (siehe Tabelle 15) haben, wurden bislang identifiziert, darunter die Schwere des Traumas und die Art des Eingriffs (Hüft-TEP vs. Knie-TEP; elektive vs. nicht-elektive-TEP), Zeitpunkt des Beginns der Thromboseprophylaxe (prä- vs. postoperativ) und BMI^{53,178}. Warkentin et al. zufolge hatten der Zeitpunkt der Thromboseprophylaxe, die Art des Eingriffs, der BMI sowie das verwendete Antikoagulans einen Einfluss auf das Serokonversionsrisiko¹⁷⁷. Zudem können mechanische Stimulationen wie der Einsatz von Tourniquets (bei Knie-TEP Eingriffen, die, verglichen mit Hüft-TEP Operationen, prinzipiell höhere Serokonversionsraten zeigen) oder die Anwendung von DMT, vermutlich vermittelt über Gewebsverletzung und die Freisetzung endogener Polyanionen, zur erhöhten Bildung von anti-PF4/Heparin-Antikörpern beitragen¹⁵⁷. Einen weiteren Risikofaktor stellt eine Arthrose dar, wobei die rheumatoide Arthritis mit einer niedrigeren Serokonversionsrate assoziiert ist^{157,171}. Untersuchungen zum pharmakologischen Einfluss von nicht-heparinbasierten Antikoagulanzen auf die Bildung von anti-PF4/Heparin-Antikörpern sind überraschend selten und widersprüchlich. Während Warkentin et al. 2005 keinen signifikanten Unterschied fanden, berichteten Bito et al. substantiell geringere Serokonversionsraten bei der Anwendung von Fondaparinux, verglichen mit NMH und UFH bei Patienten ohne zusätzliche DMT-Prophylaxe, während ohne Stratifizierung auf diese Variable die Prophylaxe mit Fondaparinux ein Risiko darstellte¹⁵⁷.

Des Weiteren könnten die während einer orthopädischen Operation aus dem Knorpel freigelegten Chondroitinsulfate eine Rolle bei der Serokonversion spielen^{42,71,78,179}. Es konnte gezeigt werden, dass HIT-Antikörper nicht heparinspezifisch sind, sondern auch an andere sulfatierte Polysaccharide und Glykosaminoglykane, wie Dermatansulfat, Heparansulfat, Dextransulfat, Pentosanpolysulfat, Heparinsulfat, Chondroitinsulfat binden (z.B. auf der Oberfläche von Thrombozyten und Endothelzellen) und zu einer Thrombozytenaktivierung führen können, wenn diese mit PF4 einen antigenen Komplex bilden^{14,31,33,37,42,54,180,181,182}. Die Bindung von PF4 hängt insbesondere vom Sulfatierungsgrad, dem Molekulargewicht, der Länge, dem Verzweigungsgrad und der Ladung der Oligosaccharidketten ab^{22,31,46,183,184,185,186,187,188}.

Für Pentosanpolysulfat und Chondroitinsulfat wurde in vivo Versuchen gezeigt, dass sie das klinische Bild einer HIT auslösen können^{180,189,190,191,192,193}.

Mittels Photonenkorrelationsspektroskopie konnte demonstriert werden, dass sich das HIT-Antigen nur bei optimalen stöchiometrischen Konzentrationen von PF4 und Heparinen bzw. Polysacchariden bildet und dass für verschiedene Heparine, z. B. UFH, NMH, Fondaparinux und Polysaccharide, ganz unterschiedliche optimale molare Ratios zu PF4 vorliegen^{21,194}. Diese ergeben sich u.a. aus der verabreichten Dosis des Antikoagulans oder der Menge an freigesetzten Polysacchariden, z. B. Chondroitinsulfat, sowie dem Grad der Thrombozytenaktivierung, die mit der Konzentration an ausgeschüttetem PF4 korreliert⁷⁸. Mit diesem stöchiometrischen Modell können die Unterschiede der HIT-Inzidenz sowie der Serokonversionsraten bei verschiedenen Patientenpopulationen erklärt werden⁷⁸. Daneben konnten patientenassoziierte Risikofaktoren identifiziert werden, die einen Einfluss auf die PF4: Heparin Ratio haben, z. B. die Art des Eingriffs (Knie-TEP > Hüft-TEP), Zeitpunkt der Heparinapplikation (präoperativ > postoperativ), BMI, Ausmaß des Gewebetraumas (höhere PF4-Freisetzung)^{53,169,177}.

Es wurden mehrere Fälle spontaner HIT beschrieben, bei denen es heparinunabhängig zu den klinischen Charakteristika einer HIT (Thrombozytopenie, thromboembolische Komplikationen, Nachweis von thrombozytenaktivierenden anti-PF4/Heparin-Antikörpern, Hemmung der Thrombozytenaktivierung durch hohe Heparinkonzentrationen) kam^{52,62,63,64,65}. Bei diesen Patienten ging eine Operation (häufig orthopädisch) voraus oder es bestand eine Infektion, die die Bildung der HIT-Antikörper getriggert haben könnten. Unklar ist jedoch die Genese der Immunogenität der PF4-Tetramere, z. B. Bindung an polyanionische Oberflächenmoleküle von Bakterien, intraoperative Freisetzung von Chondroitinsulfat oder ein anderer Mechanismus^{27,29,78}.

Im Kontext der niedrigen Serokonversionsraten in unserer Studie unter den Bedingungen einer fehlenden Heparinexposition, verglichen mit den hohen Serokonversionsraten in anderen orthopädischen Studien (siehe Tabelle 1), lässt sich vermuten, dass das während der operativen Eingriffe freigesetzte Chondroitinsulfat allein nicht auszureichen scheint, um auf dem PF4-Tetramer das antigene HIT-Epitop zu induzieren, das in der nachfolgenden Immunantwort

zur Bildung von anti-PF4/Polyanion-Antikörpern führt⁵². Ob die fehlende Immunantwort aufgrund der nicht optimalen stöchiometrischen PF4: Heparin/Polyanion – Ratio unterbleibt, ist unklar. Möglicherweise wird hierfür auch Heparin benötigt, um zusammen mit Chondroitinsulfat eine optimale stöchiometrische PF4: Polyanion/Heparin – Ratio zu erreichen, was die hohen Serokonversionsraten bei orthopädischen Patienten, die perioperativ Heparin erhalten haben, erklären könnte. In Abhängigkeit der molaren Ratio PF4: Heparin/Polyanion und der Länge der Polysaccharidketten entstehen sog. „ultralarge complexes“ (> 670 kDa) aus mehreren Heparin/Polyanion-Molekülen und PF4, die in netzartigen Strukturen die quartäre Matrix für eine effiziente Interaktion zwischen HIT-Antikörpern (Fc-Fragment) und Thrombozyten (FcγRIIa-Rezeptoren) mit konsekutiver Plättchenaktivierung via „cross-linking“ bilden^{42,45,91,195}. Eine andere Erklärung wäre eine zu niedrige PF4-Konzentration im Plasma trotz der im Rahmen der großen orthopädischen Operation maximal aktivierten Thrombozyten, da das in unserer Studie nicht applizierte und somit fehlende Heparin keine weitere Verlagerung von endothel- und plättchengebundenem PF4 in das Plasma katalysiert (es besteht eine höhere Affinität von PF4 zu Heparin als zu anderen endothelialen Glykosaminoglykanen)^{38,196,197,198,199}. In diesem Fall wäre ebenfalls die für die HIT-Antikörperbildung erforderliche optimale Ratio zwischen PF4 und Heparin im Missverhältnis. Ebenfalls könnte die Menge des an der Thrombozytenoberfläche gebundenen PF4 nicht ausreichen, da für eine Thrombozytenaktivierung in Abwesenheit von Heparin sehr hohe Konzentrationen PF4 benötigt werden^{42,199}. Auch könnte eine stärkere Inflammationsreaktion, als sie in unserer Studie beobachtet wurde, notwendig sein, um eine Immunantwort auszulösen^{53,78,152}.

Tabelle 15 - Risikofaktoren assoziiert mit heparinunabhängiger Serokonversion

Risikofaktor	generelles Risiko	Zitat	unsere Studie*	Bemerkungen
Schwere des Traumas	große OP > kleine OP	(Lubenow et al., 2010)	keine Serokonversion	<ul style="list-style-type: none"> keine Daten zu heparin-unabhängiger Prophylaxe
Typ des Eingriffs	Knie > Hüfte	(Warkentin et al., 2010)	kein Unterschied in Serokonversion	<ul style="list-style-type: none"> Einfluss nur bei NMH unter Fondaparinux kein Einfluss
Typ des Eingriffs	elektiv < Trauma	(Warkentin et al., 2010)	keine Serokonversion	<ul style="list-style-type: none"> ausschließlich elektive TEP in vorliegender Studie
BMI	hoher BMI > niedriger BMI	(Warkentin et al., 2010)	kein Unterschied in Serokonversion	<ul style="list-style-type: none"> Einfluss nur bei NMH unter Fondaparinux kein Einfluss
Start Prophylaxe	prä-OP > post-OP	(Warkentin et al., 2010)	n.a.	<ul style="list-style-type: none"> unter Fondaparinux nur bei Traumapatienten
Antikoagulans	Heparin = Nicht-Heparin	(Warkentin et al., 2005; Bito et al., 2016)	erst postoperativ gestartet	<ul style="list-style-type: none"> Ergebnisse der 2 Studien sind uneindeutig Fondaparinux Risikofaktor bei Bito et al.; bei Stratifizierung nach DMT: „fondaparinux alone is not associated with antibody formation“[§]
Mechanische Reize	DMT > ohne DMT	(Bito et al., 2016)	Keine Serokonversion	<ul style="list-style-type: none"> ausschließlich Patienten ohne DMT in vorliegender Studie
Ätiologie	OA < RA	(Izumi et al., 2016)	n.a.	<ul style="list-style-type: none"> ausschließlich Patienten mit OA in vorliegender Studie

DMT - Dynamisch-mechanische Thromboseprophylaxe; n. a. - nicht anwendbar; OA - Arthrose; RA - rheumatoide Arthritis; OP – Operation; für Details siehe Text; (§eine statistische Analyse wurde nicht geliefert.)

Ob und inwiefern Rivaroxaban als Antikoagulans anderen Faktor Xa-Inhibitoren oder Wirkstoffen mit Antithrombinaktivität in Bezug auf das Risiko einer HIT bzw. einer Serokonversion mit der Bildung von anti-PF4/Heparin-Antikörpern überlegen ist, ist aktuell spekulativ. Ebenso, ob es ähnlich wie bei Danaparoid zu einem Aufbrechen von PF4-Heparin Komplexen kommt¹³¹. Studien zu Serokonversionsraten unter einer Thromboseprophylaxe mit Rivaroxaban liegen aktuell nicht vor. Die vorliegende Untersuchung kann eine mögliche protektive Wirkung gegenüber der Bildung von anti-PF4/Heparin-Antikörpern nicht ausschließen. Für weiterführende Untersuchungen sollte ein randomisiertes Studiendesign gewählt werden

welches vergleichend NMH, Fondaparinux und besser untersuchte direkte orale Antikoagulanzen beinhaltet. Es ist in diesem Zusammenhang erwähnenswert, dass Rivaroxaban als sichere und effektive Therapie einer akuten HIT sowohl als primäre als auch als sekundäre Behandlungsoption in Fallberichten, kleineren retrospektiven und prospektiven Studien sowie einer systematischen Literatur Metaanalyse beschrieben wurde^{81,200}. In einigen Fällen erfolgte die Sekundärbehandlung mit Rivaroxaban nach primärer, erfolgloser Therapie mit Fondaparinux^{81,201}. Allerdings wurde auch für Rivaroxaban die Entwicklung einer HIT unter Thromboseprophylaxe mit Rivaroxaban berichtet, wobei die Pathogenese ungeklärt ist und durch andere Faktoren als das Antikoagulans selbst – vergleichbar der „fondaparinux-assoziierten HIT“ – bedingt gewesen sein kann²⁰². Bezüglich möglicher Limitationen unserer Studie sind präanalytische und analytische Fehlermöglichkeiten zu diskutieren. Von einem systematischen Messfehler, der die niedrige Serokonversionsrate in unserer Kohorte erklären könnte, ist aufgrund der Erfahrung und Expertise der Labormitarbeiter des Universitätsklinikums Frankfurt mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit auszuschließen. Die Aufarbeitung der Patientenserum erfolgte immer einheitlich unmittelbar im Anschluss an die Blutentnahme durch den Doktoranden (M.L.), die ELISA-Tests wurden nach entsprechender Lagerung spätestens am Folgetag durch das Laborteam des zertifizierten Gerinnungslabors der Universitätsklinik Frankfurt durchgeführt. Es erfolgte keine langfristige Lagerung der Proben. Die gemessenen Extinktionswerte im ELISA bezüglich der Messwertpaare (prä- und postoperativ) korrelierten zudem miteinander. Ebenfalls korrespondierten ELISA Testergebnisse mit den unauffälligen Ergebnissen der unabhängig im externen Referenzlabor (DRK Blutspendedienst Dessau) durchgeführten funktionellen Assays (HIPA). Es ist nicht völlig auszuschließen, dass eine zu einem späteren Zeitpunkt als die im Rahmen dieser Studie (hier: zwischen Tag 5-10 (Median: Tag 7)) durchgeführte postoperative HIT-Diagnostik eine höhere Serokonversionsrate gezeigt hätte. Eine derartige Umsetzung war aber im Rahmen dieser Studie aus logistischen Gründen nicht möglich. Während die Serokonversion aller anti-PF4/Heparin-Ig-Klassen bei „klassischer“ heparinabhängiger HIT im Median ab dem postoperativen Tag 5 nachweisbar ist (Tag 4 nach Initiierung der Heparinprophylaxe)²⁰³ und somit im Zeitrahmen dieser Studie liegt, existieren dazu keine systematischen Studienergebnisse bei

heparin-unabhängiger Serokonversion. Bei den in der Literatur berichteten Fällen einer spontanen HIT erfolgte die erste Detektion von anti-PF4/Heparin-Antikörpern zwischen dem postoperativen Tag 7 und 13^{63,64,65,69,70,72}. PF4/Heparin ELISAs in Studien zu Serokonversionsraten bei orthopädischen Eingriffen wurden zwischen dem 5. – 10. postoperativen Tag durchgeführt^{76,157,171,177}. Basierend auf diesen Daten kann davon ausgegangen werden, dass die Blutentnahmen in der vorliegenden Studie im Median und somit im Zeitfenster des Nachweises der Serokonversion der genannten Studien lagen. Das klinische Vollbild einer spontanen HIT entwickelte keiner der Patienten. Eine Patientin wies postoperativ eine risikoassoziierte TVT mit Vorliegen eines niedrigen 4Ts-Scores von 2 Punkten ohne Thrombozytopenie und ohne serologischen Nachweis von anti-PF4/Heparin-Antikörpern auf. Epidemiologische Daten anderer Arbeitsgruppen zur Inzidenz der spontanen HIT liegen bislang nicht vor. Die bis dato ausschließliche Publikation von Fallberichten deutet auf eine sehr geringe Inzidenz der heparinunabhängigen Form der HIT hin⁷⁸ (siehe Abschnitt 1.4.2). Ein fälschlicherweise eingeschlossener Patient zeichnete sich durch eine PF4/Heparin-Serokonversion aus, die bereits präoperativ bestand (OD 0,81) und sich postoperativ auf demselben Niveau zeigte (OD 0,72). Entsprechend den Ergebnissen von Warkentin et al. zur Interpretation von PF4/Heparin ELISA OD Werten, die gezeigt haben, dass die prädiktive Aussage von OD < 1,0 für einen positiven funktionellen Test mit einer Wahrscheinlichkeit eines konkordanten Ergebnisses < 5 % zwischen Immunoassay und funktionellem Test gering ist, fiel der für diesen Patienten durchgeführte HIPA Test negativ aus¹⁵⁶. Die Prävalenz von anti-PF4/Heparin-Antikörpern in der Normalpopulation wurde prinzipiell – ohne Berücksichtigung der Ig-Klasse – in verschiedenen Studien nachgewiesen^{28,156,26,29}. Hursting et al. untersuchten die Seroprävalenz von IgG, IgA und IgM anti-PF4/Heparin-Antikörpern bei 3795 Blutspendern (GTI ELISA Assay)²⁶. 4,3 % der untersuchten Personen zeigten eine positive Reaktion im ELISA (definiert als OD > 0,4), 0,9 % der Spender waren intermediär-positiv (OD: 0,60–0,99). Es ist möglich, dass die in der Normalpopulation zu beobachtenden Serokonversionsraten auf eine Präimmunisierung gegen einen Komplex aus PF4 und Polyanionen auf der Oberfläche von Bakterien zurückgeführt werden kann. Durch diese Komplexbildung entsteht ein „PF4/Heparin-like“ Epitop, dessen

Bildung im Rahmen von bakteriellen Infekten auftreten kann und dass die Bildung von anti-PF4/Polyanion-Antikörpern triggert. Im Falle einer späteren Heparinexposition kann der PF4/Heparin-Komplex im Sinne eines „misdirected host defense mechanism“ nach Stimulation einer B-Zell-Immunantwort durch die dann gebildeten anti-PF4/Polyanion-Antikörper bzw. anti-PF4/Heparin-Antikörper gebunden werden²⁹. Ein Beispiel für eine weit verbreitete chronische Infektion, die zur Präimmunisierung führen kann und die Seroprävalenz von anti-PF4/Heparin Antikörpern in der Normalpopulation erklären könnte, ist die Parodontitis²⁷. Die in der vorliegenden Studie gefundene präexistierende, operationsunabhängige Serokonversion bei einem Patienten (Patient ID 140), liegt damit im Bereich der in der Normalpopulation zu erwartenden Seroprävalenz. Detaillierte Informationen zu vorangegangenen Infektionen bei diesem Patienten lagen nicht vor, wobei die Leukozytenzahl im Normbereich lag und die CRP-Werte leicht erhöht waren, was aber im Kontext des bestehenden M. Bechterew differenziert zu bewerten ist.

Interpretation der Inflammationsmarker im Kontext

Innerhalb der Kohorte waren die proinflammatorischen Marker CRP und die Leukozytenzahl sowohl im Mittel des Patientenkollektivs als auch weitgehend bei Betrachtung der individuellen Patienten im Normbereich. Beide Parameter sind sowohl im Kontext des chirurgischen Eingriffes als auch möglicherweise bei der Serokonversion der anti-PF4/Heparin-Antikörper wichtig, wobei ihre diagnostische Bedeutung zuerst in der frühzeitigen Erkennung operationsbedingter Wundinfektionen liegt²⁰⁴. Baretto et al. fanden einen Anstieg der CRP-Konzentrationen 3 Tage nach Knie-TEP um das 11,9 - fache – nahezu identisch mit der in dieser Studie bestimmten Erhöhung der postoperativen CRP-Werte (Median Tag post OP: Tag 7; medianer Anstieg: 12,7 - fach)²⁰⁵. Da in der untersuchten Kohorte keine Infektionen auftraten, schlussfolgerten die Autoren, dass die Erhöhung der CRP-Werte ausschließlich durch das mit der Gewebeverletzung einhergehende Trauma hervorgerufen wird.

Ebenso entsprach der Mittelwert der präoperativen Leukozytenzahl dem einer retrospektiven Studie mit 13.019 Patienten ($7,38 \times 10^9/l$)²⁰⁶. Deirmengian et al. fanden einen postoperativen Anstieg der Leukozytenzahl bis zu einem

Maximalwert von $10,15 \times 10^9/l$, der an Tag 2 nach OP erreicht wurde, woraufhin sich die Leukozytenzahl bis zum letzten Beobachtungstag (Tag 4) nahezu normalisierte. In der vorliegenden Studie wurden die postoperativen Werte, beginnend mit Tag 5 nach der Operation erhoben, diese waren verglichen mit den präoperativen Werten unverändert und könnten so mit dem von Deirmengian et al. publizierten Muster eines temporären Anstieges mit schneller Normalisierung vereinbar sein.

Wirksamkeits- und sicherheitspezifischer Aspekte der Thromboseprophylaxe mit Rivaroxaban

Rivaroxaban ist seit 2008 zur Thromboseprophylaxe bei Hüft- und Kniegelenkersatzoperationen zugelassen, nachdem seine Effizienz und Sicherheit in den 4 RECORD Studien nachgewiesen worden waren^{145,207,208,164}. Die gepoolte Analyse der 12.729 Studienteilnehmer aller 4 Studien ergab bei den primären Studienendpunkten – Inzidenz symptomatischer VTE (TVT, LAE) und Mortalität (gesamt) – eine signifikante Verminderung thromboembolischer Komplikationen unter Rivaroxaban im Vergleich mit Enoxparin nach 12 ± 2 Tagen (0,5 % vs. 1,0 %, $p=0,001$)²⁰⁹. Weder waren die Raten an schweren Blutungen, an schweren und klinisch relevanten non-major Blutungen noch an Gesamtblutungsereignissen unter Rivaroxaban im Vergleich zu Enoxparin statistisch signifikant erhöht (0,3 % vs. 0,2 %, $p=0,23$; 2,8 % vs. 2,5 %, $p=0,19$ bzw. 6,6 % vs. 6,2 %, $p=0,38$)²⁰⁹. Obwohl die Ergebnisse dieser Phase III Studien nicht direkt mit den hier ermittelten Blutungsraten aufgrund unterschiedlicher Bewertungsmodi für Blutungsereignisse zu vergleichen sind, war die Inzidenz von Major-Blutungen in unserer Kohorte ebenfalls sehr niedrig, denn es fand sich bei unseren Patienten kein Korrelat für eine Major Blutung nach den von uns angewendeten ISTH Kriterien²¹⁰. Sieben Patienten (6,5 %) zeigten einen Abfall der Hb-Konzentration um ≥ 2 g/dl, jedoch lag weder eine unerwartete oder prolongierte Blutung im OP Gebiet vor, noch war ein zweiter Eingriff nötig. Ebenfalls lag auch keine Blutung außerhalb des OP Gebietes vor, die die Definition einer Major Blutung erfüllt hätte. Die Inzidenz an Gesamtblutungsereignissen (major, klinisch relevante non-major, minor) war mit 6,5 % vergleichbar niedrig. Die Blutungskomplikationen wurden anhand der ISTH Kriterien erfasst.

In der Folge des orthopädischen Eingriffes wurden keine Lungenarterienembolien oder fatalen Komplikationen dokumentiert. Eine Patientin entwickelte eine tiefe Beinvenenthrombose, die als risikoassoziiertes Ereignis interpretiert wurde. Die daraus resultierende Inzidenz symptomatischer VTE-Ereignisse von 0,93 % lag somit im Bereich der zu erwartenden VTE-Rate bei Patienten mit Thromboseprophylaxe und damit deutlich unter der Rate bei vergleichbaren Patienten ohne entsprechende Thromboseprophylaxe (3,4 %) ²¹¹. Im Ergebnis der vorliegenden Studie konnte bei Patienten mit Gelenkersatzoperation und postoperativer Thromboseprophylaxe mit Rivaroxaban keine heparin-unabhängige Bildung von anti-PF4/Heparin-Antikörpern nachgewiesen werden. Die negativen Befunde der Immunoassays korrespondierten mit den negativen Befunden der funktionellen Antikörpertests und den ausbleibenden klinischen Manifestationen einer HIT. Obwohl orthopädische Eingriffe generell mit höheren Serokonversionsraten einhergehen als z. B. bei internistischen Patienten, sind Quantität (optische Dichte im ELISA) und Qualität (Reaktivität der Antikörper) der anti-PF4/Heparin-Antikörper von vielen Variablen abhängig. Wenn auch aufgrund fehlender Vergleichsgruppen spekulativ, ist in der hier durchgeführten Untersuchung davon auszugehen, dass es zahlreiche Faktoren gibt, die eine niedrige Serokonversionsrate beeinflussen können, z. B. Rivaroxaban, der Verzicht auf eine dynamisch-mechanische Thromboseprophylaxe, aber auch eine geringe Präimmunisierungsrate durch subklinische, prä- oder perioperative Infektionen, Ausmaß des Gewebetraumas oder Freisetzung von Nukleinsäuren. Andererseits sind intraoperativ freigelegte Chondroitinsulfate alleine möglicherweise nicht ausreichend, eine Serokonversion in vivo zu bewirken (molare PF4: Heparin/Polyanion – Ratio). Zusätzlich erschweren Unterschiede im HIT-Assay-Design eine direkte Vergleichbarkeit mit existierenden Studien. Zudem bestätigen die vorliegenden Ergebnisse, dass eine spontane, klinisch manifeste HIT ein extrem seltenes Ereignis darstellt (anders als die bisher veröffentlichten Ergebnisse der reinen Serokonversion im Kontext orthopädischer Eingriffe), deren Inzidenz nur in Studien mit ausreichend großer Probandenzahl exakt zu erfassen ist.

In unserer Studie mit 107 Patienten, die sich einem orthopädischen Eingriff (Knie-/Hüft-TEP) unterzogen haben und mit Rivaroxaban antikoaguliert wurden, konnte kein Nachweis autoimmuner HIT-Autoantikörper (Serokonversion) mit

Hilfe eines HIPA oder ELISA nachgewiesen werden. Jedoch werden in der Literatur immer wieder positive Fälle einer aHIT beschrieben, welche zwingend eine weitere Untersuchung mit Hilfe von großen randomisierten Studien notwendig macht. Zusätzlich muss auf Grundlagenebene weiter untersucht werden, welche Faktoren zur Expression von autoimmunen HIT-Antikörpern führen.

5. Zusammenfassung

5.1 Englische Zusammenfassung

Introduction: Immune heparin-induced thrombocytopenia (HIT) is a life-threatening prothrombotic complication of heparin therapy caused by pathogenic anti-platelet factor 4 (PF4)/heparin antibodies. Orthopedic and cardiac surgery patients are at a higher risk of seroconversion (15-75 %) compared to medical patients (<1 %) without developing HIT sequelae like thrombocytopenia and arterial and venous thromboembolic complications. The reason for this observation is unclear. It is known that non-heparin glycosaminoglycans and sulfated polysaccharides may induce the antigenic epitope on PF4 relevant for sensitization. We hypothesized that glycosaminoglycans, i.e. chondroitin sulfates, released from articular cartilage during major orthopedic surgery might explain the high seroconversion rates.

The aim of our study was to determine the incidence of HIT antibodies in orthopedic surgery patients in the absence of heparin exposure when the direct oral factor Xa inhibitor rivaroxaban is used postoperatively for thrombosis prophylaxis instead of low-molecular weight heparin.

Material/Methods: Laboratory HIT diagnostics were performed before and ≥ 5 days after surgery utilizing an immunogenic chemiluminescence test (HemosIL® AcuStar HIT-IgG (PF4-H)) and a functional heparin-induced platelet activation assay (HIPA). Exclusion criteria: Any heparin exposure within the previous 3 months as well as during and after surgery.

Results: 107 consecutive patients, 65 (60,7 %) female, 42 (39,3 %) male patients underwent 66 (61,6 %) and 41 (38,3 %) total hip and knee replacement surgeries, respectively. No seroconversion with generation of anti-PF4/heparin antibodies were observed in any of the study patients in both, the immunogenic and the functional assay neither before nor after surgery.

Discussion: Major orthopedic surgery itself does not seem to be sufficient to trigger sensitization alone in the absence of heparin and, thus, does not seem to

explain the high seroconversion rates observed in orthopedic surgery patients. Heparin seems to be indispensable for sensitization. However, further risk factors for triggering anti-PF4/heparin antibody formation, i.e. bacterial infections, extent of trauma, release of nucleic acids, may play a role. Because the antigenic complex is induced only at an optimal molar ratio of PF4 and heparin/glycosaminoglycan, it is conceivable that at least some of these factors need to concur to reach a more significant ratio to enhance sensitization. Our study results do not explain 'spontaneous' HIT syndrome, however it cannot be rejected on the basis of our data.

5.2 Deutsche Zusammenfassung

Einführung: Die Heparininduzierte Thrombozytopenie (HIT) ist eine lebensbedrohliche Komplikation der Heparintherapie. Diese wird verursacht durch die Bildung von Antikörpern gegen einen Komplex aus Plättchenfaktor 4 (PF4) und Heparin. Orthopädische und herzchirurgische Patienten weisen deutlich höhere Serokonversionsraten auf (15-75 %) als andere Patientenkohorten, z.B. internistische Patienten (<1 %), ohne dabei in allen Fällen mit den klinischen Zeichen einer HIT, d.h. Thrombozytopenie sowie arteriellen und venösen thromboembolischen Komplikationen, einherzugehen. Der Grund für diese Beobachtung ist unklar. Es ist bekannt, dass Glykosaminoglykane und sulfatierte Polysaccharide ein Epitop auf dem Plättchenfaktor 4 induzieren können, gegen das eine Sensibilisierung erfolgen kann. Es wird vermutet, dass Glykosaminoglykane, d.h. Chondroitinsulfate, die bei großen orthopädischen Eingriffen freigesetzt werden, die hohen Serokonversionsraten bei orthopädischen Patienten erklären könnten.

Das Ziel der vorliegenden Studie war es, die Inzidenz von HIT-Antikörpern bei Patienten mit orthopädischen Eingriffen zu untersuchen, bei denen perioperativ keine Heparinexposition erfolgte. Die Antikoagulation zur Thromboseprophylaxe im untersuchten Patientenkollektiv wurde postoperativ mit dem zur orthopädischen Thromboseprophylaxe zugelassenen, direkten oralen Faktor Xa Inhibitor Rivaroxaban und nicht mit niedermolekularem Heparin durchgeführt, welches eine HIT-Antikörperbildung hätte induzieren können.

Material und Methoden: Zur HIT Diagnostik wurde jeweils präoperativ und mindestens 5 Tage postoperativ ein immunologischer Chemilumineszenztest (HemosIL® AcuStar HIT-IgG(PF4-H)) und ein funktioneller Heparin-induzierter Plättchenaktivierungstest (HIPA) durchgeführt, um eine Serokonversion zu detektieren. Ausschlusskriterium war eine Heparinexposition innerhalb der letzten 3 Monate sowie während und nach der Operation.

Ergebnisse: 107 konsekutive Patienten, 65 (60,7 %) weibliche und 42 (39,3 %) männliche Patienten, bei denen eine operative totale Hüftgelenk- (n= 66; 61,6 %) oder Kniegelenkendoprothese (n= 41; 38,3 %) durchgeführt wurde, wurden in die Studie eingeschlossen. Vor und auch nach der Operation konnte weder im durchgeführten Immunoassay noch im funktionellen HIPA eine Serokonversion mit der Bildung von anti-PF-4/Heparin Antikörpern festgestellt werden.

Diskussion: Große orthopädische Operationen allein nicht auszureichen, um die hohen HIT-Antikörper Serokonversionsraten in Abwesenheit von Heparin bei diesen Patienten zu erklären. Heparin scheint für eine Sensibilisierung unerlässlich zu sein. Aber auch andere Risikofaktoren für die Bildung von HIT-Antikörpern gegen den Komplex aus PF4 und Heparin bzw. Polyanionen, wie z.B. bakterielle Infektionen, Ausmaß des Gewebetraumas, Freisetzung von Nukleinsäuren, könnten eine Rolle spielen. Da das antigene Epitop nur bei optimalen stöchiometrischen Ratios von PF4 und Heparin/Glykosaminoglykanen induziert wird, ist es vorstellbar, dass einige der genannten Faktoren zusammenwirken könnten, um die Immunreaktion zu ermöglichen. Auf der Basis unserer Studie kann zwar das Konzept der "spontanen" HIT nicht erklärt werden. Auf Basis der bestehenden Daten kann es aber auch nicht verworfen werden.

6. Literaturverzeichnis

1. Warkentin TE. Heparin-induced thrombocytopenia: pathogenesis and management. *British journal of haematology* 2003;121:535-55.
2. Bakchoul T, Greinacher A. Recent advances in the diagnosis and treatment of heparin-induced thrombocytopenia. *Therapeutic advances in hematology* 2012;3:237-51.
3. Baroletti SA, Goldhaber SZ. Heparin-induced thrombocytopenia. *Circulation* 2006;114:e355-6.
4. Gurtler K, Euchner-Wamser I, Neeser G. Heparin-induced thrombocytopenia. *Der Anaesthesist* 2006;55:1009-25; quiz 26-7.
5. Warkentin TE. Think of HIT when thrombosis follows heparin. *Chest* 2006;130:631-2.
6. Hinz P, Lubenow N, Ekkernkamp A, Greinacher A. Informed consent on heparin-induced thrombocytopenia during thrombosis prophylaxis. A pilot study including 460 patients. *Deutsche medizinische Wochenschrift (1946)* 2003;128:2184-8.
7. Warkentin TE, Levine MN, Hirsh J, et al. Heparin-induced thrombocytopenia in patients treated with low-molecular-weight heparin or unfractionated heparin. *The New England journal of medicine* 1995;332:1330-5.
8. Greinacher A, Althaus K, Krauel K, Selleng S. Heparin-induced thrombocytopenia. *Hamostaseologie* 2010;30:17-8, 20-8.
9. Li ZQ, Liu W, Park KS, et al. Defining a second epitope for heparin-induced thrombocytopenia/thrombosis antibodies using KKO, a murine HIT-like monoclonal antibody. *Blood* 2002;99:1230-6.
10. Arepally G, Cines DB. Pathogenesis of heparin-induced thrombocytopenia and thrombosis. *Autoimmunity reviews* 2002;1:125-32.
11. Greinacher A, Potzsch B, Amiral J, Dummel V, Eichner A, Mueller-Eckhardt C. Heparin-associated thrombocytopenia: isolation of the antibody and characterization of a multimolecular PF4-heparin complex as the major antigen. *Thrombosis and haemostasis* 1994;71:247-51.

12. Anderson CL, Chacko GW, Osborne JM, Brandt JT. The Fc receptor for immunoglobulin G (Fc gamma RII) on human platelets. *Seminars in thrombosis and hemostasis* 1995;21:1-9.
13. 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;84:3691-9.
14. 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. *The Journal of clinical investigation* 1994;93:81-8.
15. Bauer TL, Arepally G, Konkle BA, et al. Prevalence of heparin-associated antibodies without thrombosis in patients undergoing cardiopulmonary bypass surgery. *Circulation* 1997;95:1242-6.
16. Arepally GM, Ortel TL. Clinical practice. Heparin-induced thrombocytopenia. *The New England journal of medicine* 2006;355:809-17.
17. Torigoshi T, Motokawa S, Maeda Y, et al. Clinical relevance of heparin-PF4 complex antibody in DVT after total joint replacement. *BMC musculoskeletal disorders* 2009;10:42.
18. Zucker MB, Katz IR. Platelet factor 4: production, structure, and physiologic and immunologic action. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine Society for Experimental Biology and Medicine (New York, NY)* 1991;198:693-702.
19. Slungaard A. Platelet factor 4: a chemokine enigma. *The international journal of biochemistry & cell biology* 2005;37:1162-7.
20. Zhang X, Chen L, Bancroft DP, Lai CK, Maione TE. Crystal structure of recombinant human platelet factor 4. *Biochemistry* 1994;33:8361-6.
21. Greinacher A, Gopinadhan M, Gunther JU, et al. Close approximation of two platelet factor 4 tetramers by charge neutralization forms the antigens recognized by HIT antibodies. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 2006;26:2386-93.
22. Greinacher A, Alban S, Dummel V, Franz G, Mueller-Eckhardt C. Characterization of the structural requirements for a carbohydrate based

anticoagulant with a reduced risk of inducing the immunological type of heparin-associated thrombocytopenia. *Thrombosis and haemostasis* 1995;74:886-92.

23. Leroux D, Canepa S, Viskov C, et al. Binding of heparin-dependent antibodies to PF4 modified by enoxaparin oligosaccharides: evaluation by surface plasmon resonance and serotonin release assay. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2012;10:430-6.

24. Stuckey JA, St Charles R, Edwards BF. A model of the platelet factor 4 complex with heparin. *Proteins* 1992;14:277-87.

25. Greinacher A, Kohlmann T, Strobel U, Sheppard JA, Warkentin TE. The temporal profile of the anti-PF4/heparin immune response. *Blood* 2009;113:4970-6.

26. Hursting MJ, Pai PJ, McCracken JE, et al. Platelet factor 4/heparin antibodies in blood bank donors. *American journal of clinical pathology* 2010;134:774-80.

27. Greinacher A, Holtfreter B, Krauel K, et al. Association of natural anti-platelet factor 4/heparin antibodies with periodontal disease. *Blood* 2011;118:1395-401.

28. Arepally GM, Hursting MJ. Platelet factor 4/heparin antibody (IgG/M/A) in healthy subjects: a literature analysis of commercial immunoassay results. *Journal of thrombosis and thrombolysis* 2008;26:55-61.

29. Krauel K, Potschke C, Weber C, et al. Platelet factor 4 binds to bacteria, [corrected] inducing antibodies cross-reacting with the major antigen in heparin-induced thrombocytopenia. *Blood* 2011;117:1370-8.

30. Selleng S, Malowsky B, Itterman T, et al. Incidence and clinical relevance of anti-platelet factor 4/heparin antibodies before cardiac surgery. *American heart journal* 2010;160:362-9.

31. Greinacher A, Michels I, Mueller-Eckhardt C. Heparin-associated thrombocytopenia: the antibody is not heparin specific. *Thrombosis and haemostasis* 1992;67:545-9.

32. Visentin GP, Moghaddam M, Beery SE, McFarland JG, Aster RH. Heparin is not required for detection of antibodies associated with heparin-induced thrombocytopenia/thrombosis. *The Journal of laboratory and clinical medicine* 2001;138:22-31.

33. Cines DB, Tomaski A, Tannenbaum S. Immune endothelial-cell injury in heparin-associated thrombocytopenia. *The New England journal of medicine* 1987;316:581-9.
34. Rauova L, Hirsch JD, Greene TK, et al. Monocyte-bound PF4 in the pathogenesis of heparin-induced thrombocytopenia. *Blood* 2010;116:5021-31.
35. Cines DB, Yarovoi SV, Zaitsev SV, et al. Polyphosphate/platelet factor 4 complexes can mediate heparin-independent platelet activation in heparin-induced thrombocytopenia. *Blood advances* 2016;1:62-74.
36. Jaax ME, Krauel K, Marschall T, et al. Complex formation with nucleic acids and aptamers alters the antigenic properties of platelet factor 4. *Blood* 2013;122:272-81.
37. Greinacher A, Warkentin TE. Contaminated heparin. *The New England journal of medicine* 2008;359:1291-2; author reply 3.
38. Alban S. GA. Role of sulfated polysaccharides in the pathogenesis of heparin-induced thrombozytopenia. Warkentin TE, Greinacher A, eds *Heparin-induced Thrombocytopenia* New York, NY: Informa Healthcare:167-86.
39. Fitzgerald JR, Foster TJ, Cox D. The interaction of bacterial pathogens with platelets. *Nature reviews Microbiology* 2006;4:445-57.
40. Yeaman MR. Bacterial-platelet interactions: virulence meets host defense. *Future microbiology* 2010;5:471-506.
41. Krauel K, Weber C, Brandt S, et al. Platelet factor 4 binding to lipid A of Gram-negative bacteria exposes PF4/heparin-like epitopes. *Blood* 2012;120:3345-52.
42. Rauova L, Zhai L, Kowalska MA, Arepally GM, Cines DB, Poncz M. Role of platelet surface PF4 antigenic complexes in heparin-induced thrombocytopenia pathogenesis: diagnostic and therapeutic implications. *Blood* 2006;107:2346-53.
43. Horne MK, 3rd, Alkins BR. Platelet binding of IgG from patients with heparin-induced thrombocytopenia. *The Journal of laboratory and clinical medicine* 1996;127:435-42.
44. Newman PM, Chong BH. Heparin-induced thrombocytopenia: new evidence for the dynamic binding of purified anti-PF4-heparin antibodies to platelets and the resultant platelet activation. *Blood* 2000;96:182-7.

45. Kelton JG, Sheridan D, Santos A, et al. Heparin-induced thrombocytopenia: laboratory studies. *Blood* 1988;72:925-30.
46. 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;83:3232-9.
47. Denomme GA. Platelet and leukocyte Fcγ receptors in heparin-induced thrombocytopenia. 5th ed Bocca Raton, London, New York: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2013 2013:209-29.
48. Warkentin TE, Sheppard JA, Horsewood P, Simpson PJ, Moore JC, Kelton JG. Impact of the patient population on the risk for heparin-induced thrombocytopenia. *Blood* 2000;96:1703-8.
49. Warkentin TE, Sheppard JI. No significant improvement in diagnostic specificity of an anti-PF4/polyanion immunoassay with use of high heparin confirmatory procedure. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2006;4:281-2.
50. Selleng S, Malowsky B, Strobel U, et al. Early-onset and persisting thrombocytopenia in post-cardiac surgery patients is rarely due to heparin-induced thrombocytopenia, even when antibody tests are positive. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2010;8:30-6.
51. Martel N, Lee J, Wells PS. Risk for heparin-induced thrombocytopenia with unfractionated and low-molecular-weight heparin thromboprophylaxis: a meta-analysis. *Blood* 2005;106:2710-5.
52. Greinacher A, Selleng K, Warkentin TE. Autoimmune heparin-induced thrombocytopenia. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2017;15:2099-114.
53. Lubenow N, Hinz P, Thomaschewski S, et al. The severity of trauma determines the immune response to PF4/heparin and the frequency of heparin-induced thrombocytopenia. *Blood* 2010;115:1797-803.
54. Greinacher A, Michels I, Schafer M, Kiefel V, Mueller-Eckhardt C. Heparin-associated thrombocytopenia in a patient treated with polysulphated chondroitin sulphate: evidence for immunological crossreactivity between heparin and polysulphated glycosaminoglycan. *British journal of haematology* 1992;81:252-4.

55. Lindhoff-Last E, Nakov R, Misselwitz F, Breddin HK, Bauersachs R. Incidence and clinical relevance of heparin-induced antibodies in patients with deep vein thrombosis treated with unfractionated or low-molecular-weight heparin. *British journal of haematology* 2002;118:1137-42.
56. Brandt S, Krauel K, Jaax M, et al. Polyphosphates form antigenic complexes with platelet factor 4 (PF4) and enhance PF4-binding to bacteria. *Thrombosis and haemostasis* 2015;114:1189-98.
57. Padmanabhan A, Jones CG, Bougie DW, et al. Heparin-independent, PF4-dependent binding of HIT antibodies to platelets: implications for HIT pathogenesis. *Blood* 2015;125:155-61.
58. Nguyen TH, Medvedev N, Delcea M, Greinacher A. Anti-platelet factor 4/polyanion antibodies mediate a new mechanism of autoimmunity. *Nature communications* 2017;8:14945.
59. Sachais BS, Litvinov RI, Yarovoi SV, et al. Dynamic antibody-binding properties in the pathogenesis of HIT. *Blood* 2012;120:1137-42.
60. Litvinov RI, Yarovoi SV, Rauova L, et al. Distinct specificity and single-molecule kinetics characterize the interaction of pathogenic and non-pathogenic antibodies against platelet factor 4-heparin complexes with platelet factor 4. *The Journal of biological chemistry* 2013;288:33060-70.
61. Warkentin TE, Basciano PA, Knopman J, Bernstein RA. Spontaneous heparin-induced thrombocytopenia syndrome: 2 new cases and a proposal for defining this disorder. *Blood* 2014;123:3651-4.
62. Warkentin TE, Makris M, Jay RM, Kelton JG. A spontaneous prothrombotic disorder resembling heparin-induced thrombocytopenia. *The American journal of medicine* 2008;121:632-6.
63. Jay RM, Warkentin TE. Fatal heparin-induced thrombocytopenia (HIT) during warfarin thromboprophylaxis following orthopedic surgery: another example of 'spontaneous' HIT? *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2008;6:1598-600.
64. Pruthi RK, Daniels PR, Nambudiri GS, Warkentin TE. Heparin-induced thrombocytopenia (HIT) during postoperative warfarin thromboprophylaxis: a second example of postorthopedic surgery 'spontaneous' HIT. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2009;7:499-501.

65. Mallik A, Carlson KB, DeSancho MT. A patient with 'spontaneous' heparin-induced thrombocytopenia and thrombosis after undergoing knee replacement. *Blood coagulation & fibrinolysis : an international journal in haemostasis and thrombosis* 2011;22:73-5.
66. Perrin J, Barraud D, Toussaint-Hacquard M, Bollaert PE, Lecompte T. Rapid onset heparin-induced thrombocytopenia (HIT) without history of heparin exposure: a new case of so-called 'spontaneous' HIT. *Thrombosis and haemostasis* 2012;107:795-7.
67. Ketha S, Smithedajkul P, Vella A, Pruthi R, Wysokinski W, McBane R. Adrenal haemorrhage due to heparin-induced thrombocytopenia. *Thrombosis and haemostasis* 2013;109:669-75.
68. Greinacher A. Me or not me? The danger of spontaneity. *Blood* 2014;123:3536-8.
69. Warkentin TE, Safyan EL, Linkins LA. Heparin-induced thrombocytopenia presenting as bilateral adrenal hemorrhages. *The New England journal of medicine* 2015;372:492-4.
70. Baker K, Lim MY. Spontaneous Heparin-Induced Thrombocytopenia and Venous Thromboembolism following Total Knee Arthroplasty. *Case reports in hematology* 2017;2017:4918623.
71. Poudel DR, Ghimire S, Dhital R, Forman DA, Warkentin TE. Spontaneous HIT syndrome post-knee replacement surgery with delayed recovery of thrombocytopenia: a case report and literature review. *Platelets* 2017;28:614-20.
72. Elshoury A, Khedr M, Abousayed MM, Mehdi S. Spontaneous heparin-induced thrombocytopenia presenting as bilateral adrenal hemorrhages and pulmonary embolism after total knee arthroplasty. *Arthroplasty today* 2015;1:69-71.
73. Okata T, Miyata S, Miyashita F, Maeda T, Toyoda K. Spontaneous heparin-induced thrombocytopenia syndrome without any proximate heparin exposure, infection, or inflammatory condition: Atypical clinical features with heparin-dependent platelet activating antibodies. *Platelets* 2015;26:602-7.
74. VanderVeer EA, Torbiak RP, Prebtani AP, Warkentin TE. Spontaneous heparin-induced thrombocytopenia syndrome presenting as bilateral adrenal infarction after knee arthroplasty. *BMJ case reports* 2019;12.

75. Hwang SR, Wang Y, Weil EL, Padmanabhan A, Warkentin TE, Pruthi RK. Cerebral venous sinus thrombosis associated with spontaneous heparin-induced thrombocytopenia syndrome after total knee arthroplasty. *Platelets* 2020;1-5.
76. Warkentin TE, Cook RJ, Marder VJ, et al. Anti-platelet factor 4/heparin antibodies in orthopedic surgery patients receiving antithrombotic prophylaxis with fondaparinux or enoxaparin. *Blood* 2005;106:3791-6.
77. Warkentin TE. Fondaparinux: does it cause HIT? Can it treat HIT? Expert review of hematology 2010;3:567-81.
78. Linkins LA, Lee DH. Frequency of heparin-induced thrombozytopenia In: Warkentin TE, Greinacher A, eds. Heparin- induced thrombocytopenia. 5th ed Boca Raton, London, New York: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2013:110-50.
79. Warkentin TE. Clinical picture of heparin-induced thrombocytopenia (HIT) and its differentiation from non-HIT thrombocytopenia. *Thrombosis and haemostasis* 2016;116:813-22.
80. Schindewolf M, Steindl J, Beyer-Westendorf J, et al. Use of Fondaparinux Off-Label or Approved Anticoagulants for Management of Heparin-Induced Thrombocytopenia. *Journal of the American College of Cardiology* 2017;70:2636-48.
81. Warkentin TE, Pai M, Linkins LA. Direct oral anticoagulants for treatment of HIT: update of Hamilton experience and literature review. *Blood* 2017;130:1104-13.
82. Rota E, Bazzan M, Fantino G. Fondaparinux-related thrombocytopenia in a previous low-molecular-weight heparin (LMWH)-induced heparin-induced thrombocytopenia (HIT). *Thrombosis and haemostasis* 2008;99:779-81.
83. Tvito A, Bakchoul T, Rowe JM, Greinacher A, Ganzel C. Severe and persistent heparin-induced thrombocytopenia despite fondaparinux treatment. *American journal of hematology* 2015;90:675-8.
84. Warkentin TE, Maurer BT, Aster RH. Heparin-induced thrombocytopenia associated with fondaparinux. *The New England journal of medicine* 2007;356:2653-5; discussion -5.
85. Salem M, Elrefai S, Shrit MA, Warkentin TE. Fondaparinux thromboprophylaxis-associated heparin-induced thrombocytopenia syndrome

complicated by arterial thrombotic stroke. *Thrombosis and haemostasis* 2010;104:1071-2.

86. Burch M, Cooper B. Fondaparinux-associated heparin-induced thrombocytopenia. *Proceedings (Baylor University Medical Center)* 2012;25:13-5.

87. Warkentin TE, Chakraborty AK, Sheppard JA, Griffin DK. The serological profile of fondaparinux-associated heparin-induced thrombocytopenia syndrome. *Thrombosis and haemostasis* 2012;108:394-6.

88. Warkentin TE, Sheppard JA, Manheim JC. HIT complicating fondaparinux prophylaxis: fondaparinux-dependent platelet activation as a marker for fondaparinux-induced HIT. *Thrombosis and haemostasis* 2014;112:1319-22.

89. Ratuapli SK, Bobba B, Zafar H. Heparin-induced thrombocytopenia in a patient treated with fondaparinux. *Clinical advances in hematology & oncology : H&O* 2010;8:61-5.

90. Chong BH, Chong JJ. Heparin-induced thrombocytopenia associated with fondaparinux. *Clinical advances in hematology & oncology : H&O* 2010;8:63-5.

91. Rauova L, Poncz M, McKenzie SE, et al. Ultralarge complexes of PF4 and heparin are central to the pathogenesis of heparin-induced thrombocytopenia. *Blood* 2005;105:131-8.

92. Warkentin TE, Davidson BL, Büller HR, et al. Prevalence and risk of preexisting heparin-induced thrombocytopenia antibodies in patients with acute VTE. *Chest* 2011;140:366-73.

93. Elalamy I, Tribout B. Can heparin-induced thrombocytopenia be associated with fondaparinux use? A rebuttal. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2008;6:1242-3; author reply 3-6.

94. Bhatt VR, Aryal MR, Shrestha R, Armitage JO. Fondaparinux-associated heparin-induced thrombocytopenia. *European journal of haematology* 2013;91:437-41.

95. Alsaleh KA, Al-Nasser SM, Bates SM, Patel A, Warkentin TE, Arnold DM. Delayed-onset HIT caused by low-molecular-weight heparin manifesting during fondaparinux prophylaxis. *American journal of hematology* 2008;83:876-8.

96. Cai Z, Zhu Z, Greene MI, Cines DB. Atomic features of an autoantigen in heparin-induced thrombocytopenia (HIT). *Autoimmunity reviews* 2016;15:752-5.

97. Warkentin TE, Kelton JG. Temporal aspects of heparin-induced thrombocytopenia. *The New England journal of medicine* 2001;344:1286-92.
98. Warkentin TE, Kelton JG. Delayed-onset heparin-induced thrombocytopenia and thrombosis. *Annals of internal medicine* 2001;135:502-6.
99. Ling E, Warkentin TE. Intraoperative heparin flushes and subsequent acute heparin-induced thrombocytopenia. *Anesthesiology* 1998;89:1567-9.
100. Jackson MR, Neilson WJ, Lary M, Baay P, Web K, Clagett GP. Delayed-onset heparin-induced thrombocytopenia and thrombosis after intraoperative heparin anticoagulation-four case reports. *Vascular and endovascular surgery* 2006;40:67-70.
101. Rice L, Attisha WK, Drexler A, Francis JL. Delayed-onset heparin-induced thrombocytopenia. *Annals of internal medicine* 2002;136:210-5.
102. Hach-Wunderle V, Kainer K, Krug B, Muller-Berghaus G, Potzsch B. Heparin-associated thrombosis despite normal platelet counts. *Lancet* 1994;344:469-70.
103. Greinacher A, Farner B, Kroll H, Kohlmann T, Warkentin TE, Eichler P. Clinical features of heparin-induced thrombocytopenia including risk factors for thrombosis. A retrospective analysis of 408 patients. *Thrombosis and haemostasis* 2005;94:132-5.
104. Ernest D, Fisher MM. Heparin-induced thrombocytopenia complicated by bilateral adrenal haemorrhage. *Intensive care medicine* 1991;17:238-40.
105. Warkentin TE, Greinacher A. Heparin-induced thrombocytopenia: recognition, treatment, and prevention: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest* 2004;126:311s-37s.
106. Warkentin TE. New approaches to the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *Chest* 2005;127:35s-45s.
107. 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. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2006;4:759-65.
108. Sheridan D, Carter C, Kelton JG. A diagnostic test for heparin-induced thrombocytopenia. *Blood* 1986;67:27-30.

109. Greinacher A, Michels I, Kiefel V, Mueller-Eckhardt C. A rapid and sensitive test for diagnosing heparin-associated thrombocytopenia. *Thrombosis and haemostasis* 1991;66:734-6.
110. Chong BH, Burgess J, Ismail F. The clinical usefulness of the platelet aggregation test for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *Thrombosis and haemostasis* 1993;69:344-50.
111. Lubenow N, Selleng S, Wollert HG, Eichler P, Mullejans B, Greinacher A. Heparin-induced thrombocytopenia and cardiopulmonary bypass: perioperative argatroban use. *The Annals of thoracic surgery* 2003;75:577-9.
112. Meyer O, Salama A, Pittet N, Schwind P. Rapid detection of heparin-induced platelet antibodies with particle gel immunoassay (ID-HPF4). *Lancet* 1999;354:1525-6.
113. Warkentin TE. Laboratory testing for heparin-induced thrombocytopenia. *Journal of thrombosis and thrombolysis* 2000;10 Suppl 1:35-45.
114. Bakchoul T, Giptner A, Najaoui A, Bein G, Santoso S, Sachs UJ. Prospective evaluation of PF4/heparin immunoassays for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2009;7:1260-5.
115. Pouplard C, Leroux D, Regina S, Rollin J, Gruel Y. Effectiveness of a new immunoassay for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia and improved specificity when detecting IgG antibodies. *Thrombosis and haemostasis* 2010;103:145-50.
116. Warkentin TE. Platelet count monitoring and laboratory testing for heparin-induced thrombocytopenia. *Archives of pathology & laboratory medicine* 2002;126:1415-23.
117. Warkentin TE. Fondaparinux versus direct thrombin inhibitor therapy for the management of heparin-induced thrombocytopenia (HIT)--bridging the River Coumarin. *Thrombosis and haemostasis* 2008;99:2-3.
118. Warkentin TE, Kelton JG. A 14-year study of heparin-induced thrombocytopenia. *The American journal of medicine* 1996;101:502-7.
119. Wallis DE, Workman DL, Lewis BE, Steen L, Pifarre R, Moran JF. Failure of early heparin cessation as treatment for heparin-induced thrombocytopenia. *The American journal of medicine* 1999;106:629-35.

120. 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;100:587-93.
121. Greinacher A, Volpel H, Janssens U, et al. Recombinant hirudin (lepirudin) provides safe and effective anticoagulation in patients with heparin-induced thrombocytopenia: a prospective study. *Circulation* 1999;99:73-80.
122. Lewis BE, Wallis DE, Leya F, Hursting MJ, Kelton JG. Argatroban anticoagulation in patients with heparin-induced thrombocytopenia. *Archives of internal medicine* 2003;163:1849-56.
123. Chong BH, Gallus AS, Cade JF, et al. Prospective randomised open-label comparison of danaparoid with dextran 70 in the treatment of heparin-induced thrombocytopenia with thrombosis: a clinical outcome study. *Thrombosis and haemostasis* 2001;86:1170-5.
124. Papadopoulos S, Flynn JD, Lewis DA. Fondaparinux as a treatment option for heparin-induced thrombocytopenia. *Pharmacotherapy* 2007;27:921-6.
125. Grouzi E, Kyriakou E, Panagou I, Spiliotopoulou I. Fondaparinux for the treatment of acute heparin-induced thrombocytopenia: a single-center experience. *Clinical and applied thrombosis/hemostasis : official journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis* 2010;16:663-7.
126. Lobo B, Finch C, Howard A, Minhas S. Fondaparinux for the treatment of patients with acute heparin-induced thrombocytopenia. *Thrombosis and haemostasis* 2008;99:208-14.
127. Warkentin TE. Anticoagulant failure in coagulopathic patients: PTT confounding and other pitfalls. *Expert opinion on drug safety* 2014;13:25-43.
128. Castellone DD, Van Cott EM. Laboratory monitoring of new anticoagulants. *American journal of hematology* 2010;85:185-7.
129. Walenga JM, Hoppensteadt DA. Monitoring the new antithrombotic drugs. *Seminars in thrombosis and hemostasis* 2004;30:683-95.
130. Seidel H, Kolde HJ. Monitoring of Argatroban and Lepirudin: What is the Input of Laboratory Values in "Real Life"? *Clinical and applied thrombosis/hemostasis : official journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis* 2018;24:287-94.

131. Krauel K, Furll B, Warkentin TE, et al. Heparin-induced thrombocytopenia-therapeutic concentrations of danaparoid, unlike fondaparinux and direct thrombin inhibitors, inhibit formation of platelet factor 4-heparin complexes. *Journal of thrombosis and haemostasis* : JTH 2008;6:2160-7.
132. Krauel K, Hackbarth C, Furll B, Greinacher A. Heparin-induced thrombocytopenia: in vitro studies on the interaction of dabigatran, rivaroxaban, and low-sulfated heparin, with platelet factor 4 and anti-PF4/heparin antibodies. *Blood* 2012;119:1248-55.
133. Warkentin TE, Pai M, Sheppard JI, Schulman S, Spyropoulos AC, Eikelboom JW. Fondaparinux treatment of acute heparin-induced thrombocytopenia confirmed by the serotonin-release assay: a 30-month, 16-patient case series. *Journal of thrombosis and haemostasis* : JTH 2011;9:2389-96.
134. Snodgrass MN, Shields J, Rai H. Efficacy and Safety of Fondaparinux in Patients With Suspected Heparin-Induced Thrombocytopenia. *Clinical and applied thrombosis/hemostasis : official journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis* 2016;22:712-7.
135. Cegarra-Sanmartin V, Gonzalez-Rodriguez R, Paniagua-Iglesias P, et al. Fondaparinux as a safe alternative for managing heparin-induced thrombocytopenia in postoperative cardiac surgery patients. *Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia* 2014;28:1008-12.
136. Linkins LA, Warkentin TE, Pai M, et al. Rivaroxaban for treatment of suspected or confirmed heparin-induced thrombocytopenia study. *Journal of thrombosis and haemostasis* : JTH 2016;14:1206-10.
137. Manji F, Warkentin TE, Sheppard JI, Lee A. Fondaparinux cross-reactivity in heparin-induced thrombocytopenia successfully treated with high-dose intravenous immunoglobulin and rivaroxaban. *Platelets* 2020;31:124-7.
138. Linkins LA, Warkentin TE, Pai M, et al. Design of the rivaroxaban for heparin-induced thrombocytopenia study. *Journal of thrombosis and thrombolysis* 2014;38:485-92.
139. Hirsh J, Warkentin TE, Raschke R, Granger C, Ohman EM, Dalen JE. Heparin and low-molecular-weight heparin: mechanisms of action, pharmacokinetics, dosing considerations, monitoring, efficacy, and safety. *Chest* 1998;114:489s-510s.

140. Mani H. L-LE. Pharmakologie niedermolekularer Heparine. Heidelberg: springer; 2006.
141. Lee S, Raw A, Yu L, et al. Scientific considerations in the review and approval of generic enoxaparin in the United States. *Nature biotechnology* 2013;31:220-6.
142. Bauer KA, Hawkins DW, Peters PC, et al. Fondaparinux, a synthetic pentasaccharide: the first in a new class of antithrombotic agents - the selective factor Xa inhibitors. *Cardiovascular drug reviews* 2002;20:37-52.
143. Perzborn E, Strassburger J, Wilmen A, et al. In vitro and in vivo studies of the novel antithrombotic agent BAY 59-7939--an oral, direct Factor Xa inhibitor. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2005;3:514-21.
144. Duggan ST, Scott LJ, Plosker GL. Rivaroxaban: a review of its use for the prevention of venous thromboembolism after total hip or knee replacement surgery. *Drugs* 2009;69:1829-51.
145. Eriksson BI, Borris LC, Friedman RJ, et al. Rivaroxaban versus enoxaparin for thromboprophylaxis after hip arthroplasty. *The New England journal of medicine* 2008;358:2765-75.
146. Kubitzka D, Becka M, Voith B, Zuehlsdorf M, Wensing G. Safety, pharmacodynamics, and pharmacokinetics of single doses of BAY 59-7939, an oral, direct factor Xa inhibitor. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2005;78:412-21.
147. Kubitzka D, Becka M, Wensing G, Voith B, Zuehlsdorf M. Safety, pharmacodynamics, and pharmacokinetics of BAY 59-7939--an oral, direct Factor Xa inhibitor--after multiple dosing in healthy male subjects. *European journal of clinical pharmacology* 2005;61:873-80.
148. Weinz C, Schwarz T, Kubitzka D, Mueck W, Lang D. Metabolism and excretion of rivaroxaban, an oral, direct factor Xa inhibitor, in rats, dogs, and humans. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals* 2009;37:1056-64.
149. Mueck W, Stampfuss J, Kubitzka D, Becka M. Clinical pharmacokinetic and pharmacodynamic profile of rivaroxaban. *Clinical pharmacokinetics* 2014;53:1-16.

150. Mueck W, Kubitzka D, Becka M. Co-administration of rivaroxaban with drugs that share its elimination pathways: pharmacokinetic effects in healthy subjects. *British journal of clinical pharmacology* 2013;76:455-66.
151. Leverkusen BA, inventor Fachinformation Rivaroxaban. Germany 2008.
152. T.E. Warkentin AGE. Heparin-Induced Thrombocytopenia (5th Edition). CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Roton, London, New York 2013:272-314.
153. Eichler P, Budde U, Haas S, et al. First workshop for detection of heparin-induced antibodies: validation of the heparin-induced platelet-activation test (HIPA) in comparison with a PF4/heparin ELISA. *Thrombosis and haemostasis* 1999;81:625-9.
154. Andrew S. Levey MJPB, MD; Julia Breyer Lewis, MD; Tom Greene, PhD; Nancy Rogers, MS; and David Roth, MD. A More Accurate Method To Estimate Glomerular Filtration Rate from Serum Creatinine: A New Prediction Equation. *Ann Intern Med* 1999:461-70.
155. WHO. Body mass index - BMI. <http://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/nutrition/a-healthy-lifestyle/body-mass-index-bmi>. Juli 2018. 2018.
156. Warkentin TE, Sheppard JI, Moore JC, Sigouin CS, Kelton JG. Quantitative interpretation of optical density measurements using PF4-dependent enzyme-immunoassays. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2008;6:1304-12.
157. Bito S, Miyata S, Migita K, et al. Mechanical prophylaxis is a heparin-independent risk for anti-platelet factor 4/heparin antibody formation after orthopedic surgery. *Blood* 2016;127:1036-43.
158. Greinacher A, Juhl D, Strobel U, et al. Heparin-induced thrombocytopenia: a prospective study on the incidence, platelet-activating capacity and clinical significance of antiplatelet factor 4/heparin antibodies of the IgG, IgM, and IgA classes. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2007;5:1666-73.
159. Greinacher A, Ittermann T, Bagemühl J, et al. Heparin-induced thrombocytopenia: towards standardization of platelet factor 4/heparin antigen tests. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2010;8:2025-31.
160. Juhl D, Eichler P, Lubenow N, Strobel U, Wessel A, Greinacher A. Incidence and clinical significance of anti-PF4/heparin antibodies of the IgG, IgM,

and IgA class in 755 consecutive patient samples referred for diagnostic testing for heparin-induced thrombocytopenia. *European journal of haematology* 2006;76:420-6.

161. Arepally GM. Heparin-induced thrombocytopenia. *Blood* 2017;129:2864-72.

162. Franklin PD, Miozzari H, Christofilopoulos P, Hoffmeyer P, Ayers DC, Lubbeke A. Important patient characteristics differ prior to total knee arthroplasty and total hip arthroplasty between Switzerland and the United States. *BMC musculoskeletal disorders* 2017;18:14.

163. Mensink GBM, Schienkiewitz, A., Haftenberger, M., Lampert, T., Ziese, T., and Scheidt-Nave, C. . Übergewicht und Adipositas in Deutschland: Ergebnisse der Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland (DEGS1). *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 2013;56:786-94.

164. Turpie AG, Lassen MR, Davidson BL, et al. Rivaroxaban versus enoxaparin for thromboprophylaxis after total knee arthroplasty (RECORD4): a randomised trial. *Lancet* 2009;373:1673-80.

165. Husseinzadeh HD, Gimotty PA, Pishko AM, Buckley M, Warkentin TE, Cuker A. Diagnostic accuracy of IgG-specific versus polyspecific enzyme-linked immunoassays in heparin-induced thrombocytopenia: a systematic review and meta-analysis. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2017;15:1203-12.

166. Lindhoff-Last E, Gerdson F, Ackermann H, Bauersachs R. Determination of heparin-platelet factor 4-IgG antibodies improves diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *British journal of haematology* 2001;113:886-90.

167. Amiral J, Marfaing-Koka A, Wolf M, et al. Presence of autoantibodies to interleukin-8 or neutrophil-activating peptide-2 in patients with heparin-associated thrombocytopenia. *Blood* 1996;88:410-6.

168. Raschke RA, Curry SC, Warkentin TE, Gerkin RD. Improving clinical interpretation of the anti-platelet factor 4/heparin enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia through the use of receiver operating characteristic analysis, stratum-specific likelihood ratios, and Bayes theorem. *Chest* 2013;144:1269-75.

169. Ahmad S, Haas S, Hoppensteadt DA, et al. Differential effects of clivarin and heparin in patients undergoing hip and knee surgery for the generation of anti-heparin-platelet factor 4 antibodies. *Thrombosis research* 2002;108:49-55.
170. Greinacher A, Eichler P, Lietz T, Warkentin TE. Replacement of unfractionated heparin by low-molecular-weight heparin for postorthopedic surgery antithrombotic prophylaxis lowers the overall risk of symptomatic thrombosis because of a lower frequency of heparin-induced thrombocytopenia. *Blood* 2005;106:2921-2.
171. Izumi M, Sakai T, Shirakawa A, et al. Reduced induction of anti-PF4/heparin antibody in RA patients after total knee arthroplasty. *Arthritis research & therapy* 2016;18:191.
172. Migita K, Asano T, Sato S, Motokawa S. Induction of anti-PF4/heparin antibodies after arthroplasty for rheumatic diseases. *Fukushima journal of medical science* 2018;64:1-8.
173. Bauer KA, Eriksson BI, Lassen MR, Turpie AG. Fondaparinux compared with enoxaparin for the prevention of venous thromboembolism after elective major knee surgery. *The New England journal of medicine* 2001;345:1305-10.
174. Turpie AG, Bauer KA, Eriksson BI, Lassen MR. Postoperative fondaparinux versus postoperative enoxaparin for prevention of venous thromboembolism after elective hip-replacement surgery: a randomised double-blind trial. *Lancet* 2002;359:1721-6.
175. Lassen MR, Bauer KA, Eriksson BI, Turpie AG. Postoperative fondaparinux versus preoperative enoxaparin for prevention of venous thromboembolism in elective hip-replacement surgery: a randomised double-blind comparison. *Lancet* 2002;359:1715-20.
176. Eriksson BI, Bauer KA, Lassen MR, Turpie AG. Fondaparinux compared with enoxaparin for the prevention of venous thromboembolism after hip-fracture surgery. *The New England journal of medicine* 2001;345:1298-304.
177. Warkentin TE, Cook RJ, Marder VJ, Greinacher A. Anti-PF4/heparin antibody formation postorthopedic surgery thromboprophylaxis: the role of non-drug risk factors and evidence for a stoichiometry-based model of immunization. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2010;8:504-12.
178. Warkentin TE. Knee replacement and HIT without heparin. *Blood* 2016;127:961-2.

179. Schindewolf M, Lindhoff-Last E. Fondaparinux-related thrombocytopenia in a patient with former HIT. Response to Rota et al. (*Thromb Haemost* 2008; 99: 779-781). *Thrombosis and haemostasis* 2008;100:168-9; author reply 9-70.
180. Greinacher A, Michels I, Liebenhoff U, Presek P, Mueller-Eckhardt C. Heparin-associated thrombocytopenia: immune complexes are attached to the platelet membrane by the negative charge of highly sulphated oligosaccharides. *British journal of haematology* 1993;84:711-6.
181. Anderson GP. Insights into heparin-induced thrombocytopenia. *British journal of haematology* 1992;80:504-8.
182. Vitoux JF, Roncato M, Hourdebaigt P, Aiach M, Fiessinger JN. Heparin-induced thrombocytopenia and pentosan polysulfate: treatment with a low molecular weight heparin despite in vitro platelet aggregation. *Thrombosis and haemostasis* 1986;55:294-5.
183. Amiral J, Bridey F, Wolf M, et al. Antibodies to macromolecular platelet factor 4-heparin complexes in heparin-induced thrombocytopenia: a study of 44 cases. *Thrombosis and haemostasis* 1995;73:21-8.
184. Weimann G, Lubenow N, Selleng K, Eichler P, Albrecht D, Greinacher A. Glucosamine sulfate does not crossreact with the antibodies of patients with heparin-induced thrombocytopenia. *European journal of haematology* 2001;66:195-9.
185. Greinacher A, Drost W, Michels I, et al. Heparin-associated thrombocytopenia: successful therapy with the heparinoid Org 10172 in a patient showing cross-reaction to LMW heparins. *Annals of hematology* 1992;64:40-2.
186. Wolf H, Nowack H, Wick G. Detection of antibodies interacting with glycosaminoglycan polysulfate in patients treated with heparin or other polysulfated glycosaminoglycans. *International archives of allergy and applied immunology* 1983;70:157-63.
187. Tiffany ML, Penner JA. Heparin and other sulfated polyanions: their interaction with the blood platelet. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1981;370:662-7.
188. Maccarana M, Lindahl U. Mode of interaction between platelet factor 4 and heparin. *Glycobiology* 1993;3:271-7.

189. Tardy-Poncet B, Tardy B, Grelac F, et al. Pentosan polysulfate-induced thrombocytopenia and thrombosis. *American journal of hematology* 1994;45:252-7.
190. Guerrini M, Beccati D, Shriver Z, et al. Oversulfated chondroitin sulfate is a contaminant in heparin associated with adverse clinical events. *Nature biotechnology* 2008;26:669-75.
191. Blossom DB, Kallen AJ, Patel PR, et al. Outbreak of adverse reactions associated with contaminated heparin. *The New England journal of medicine* 2008;359:2674-84.
192. Li B, Suwan J, Martin JG, et al. Oversulfated chondroitin sulfate interaction with heparin-binding proteins: new insights into adverse reactions from contaminated heparins. *Biochemical pharmacology* 2009;78:292-300.
193. Follea G, Hamandjian I, Trzeciak MC, Nedey C, Streichenberger R, Dechavanne M. Pentosan polysulphate associated thrombocytopenia. *Thrombosis research* 1986;42:413-8.
194. Greinacher A, Alban S, Omer-Adam MA, Weitschies W, Warkentin TE. Heparin-induced thrombocytopenia: a stoichiometry-based model to explain the differing immunogenicities of unfractionated heparin, low-molecular-weight heparin, and fondaparinux in different clinical settings. *Thrombosis research* 2008;122:211-20.
195. Arepally G, McKenzie SE, Jiang XM, Poncz M, Cines DB. Fc gamma RIIA H/R 131 polymorphism, subclass-specific IgG anti-heparin/platelet factor 4 antibodies and clinical course in patients with heparin-induced thrombocytopenia and thrombosis. *Blood* 1997;89:370-5.
196. Horne MK, 3rd. The effect of secreted heparin-binding proteins on heparin binding to platelets. *Thrombosis research* 1993;70:91-8.
197. O'Brien JR, Etherington MD, Pashley MA. The heparin-mobilisable pool of platelet factor 4: a comparison of intravenous and subcutaneous heparin and Kabi heparin fragment 2165. *Thrombosis and haemostasis* 1985;54:735-8.
198. O'Brien JR, Etherington MD, Pashley M. Intra-platelet platelet factor 4 (IP.PF4) and the heparin-mobilisable pool of PF4 in health and atherosclerosis. *Thrombosis and haemostasis* 1984;51:354-7.
199. Loscalzo J, Melnick B, Handin RI. The interaction of platelet factor four and glycosaminoglycans. *Archives of biochemistry and biophysics* 1985;240:446-55.

200. Davis KA, Davis DO. Direct acting oral anticoagulants for the treatment of suspected heparin-induced thrombocytopenia. *European journal of haematology* 2017;99:332-5.
201. Warkentin TE. Fondaparinux for Treatment of Heparin-Induced Thrombocytopenia: Too Good to Be True? *Journal of the American College of Cardiology* 2017;70:2649-51.
202. Tardy-Poncet B, Piot M, Montmartin A, Burdier A, Chalayer E, Tardy B. Delayed-onset heparin-induced thrombocytopenia without thrombosis in a patient receiving postoperative thromboprophylaxis with rivaroxaban. *Thrombosis and haemostasis* 2015;114:652-4.
203. Warkentin TE, Sheppard JA, Moore JC, Cook RJ, Kelton JG. Studies of the immune response in heparin-induced thrombocytopenia. *Blood* 2009;113:4963-9.
204. Paparella D, Scrascia G, Galeone A, et al. Formation of anti-platelet factor 4/heparin antibodies after cardiac surgery: influence of perioperative platelet activation, the inflammatory response, and histocompatibility leukocyte antigen status. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery* 2008;136:1456-63.
205. Barretto JM, Loures FB, Albuquerque RS, Bezerra FD, Faro RV, Cavanellas NT. Evaluation of serum levels of C-reactive protein after total knee arthroplasty. *Revista brasileira de ortopedia* 2017;52:176-81.
206. Deirmengian GK, Zmistowski B, Jacovides C, O'Neil J, Parvizi J. Leukocytosis is common after total hip and knee arthroplasty. *Clinical orthopaedics and related research* 2011;469:3031-6.
207. Kakkar AK, Brenner B, Dahl OE, et al. Extended duration rivaroxaban versus short-term enoxaparin for the prevention of venous thromboembolism after total hip arthroplasty: a double-blind, randomised controlled trial. *Lancet* 2008;372:31-9.
208. Lassen MR, Agno W, Borris LC, et al. Rivaroxaban versus enoxaparin for thromboprophylaxis after total knee arthroplasty. *The New England journal of medicine* 2008;358:2776-86.
209. Turpie AG, Lassen MR, Eriksson BI, et al. Rivaroxaban for the prevention of venous thromboembolism after hip or knee arthroplasty. Pooled analysis of four studies. *Thrombosis and haemostasis* 2011;105:444-53.

210. Schulman S, Angerås U, Bergqvist D, Eriksson B, Lassen MR, Fisher W. Definition of major bleeding in clinical investigations of antihemostatic medicinal products in surgical patients. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2010;8:202-4.

211. Imberti D, Bianchi C, Zambon A, et al. Venous thromboembolism after major orthopaedic surgery: a population-based cohort study. *Internal and emergency medicine* 2012;7:243-9.

Lebenslauf

Schriftliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Dissertation mit dem Titel

Generierung von HIT Antikörpern im Rahmen orthopädischer Eingriffe ohne Heparinexposition.

in der Medizinischen Klinik 3 unter Betreuung und Anleitung von PD Dr. Marc Schindewolf mit Unterstützung durch Frau Balaban (Institut für Biostatistik und Mathematische Modellierung) ohne weitere Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe. Darüber hinaus versichere ich, nicht die Hilfe einer kommerziellen Promotionsvermittlung in Anspruch genommen zu haben.

Ich habe bisher an keiner in- oder ausländischen Universität ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht. Die vorliegende Arbeit wurde bisher nicht als Dissertation eingereicht.

(Ort, Datum)

(Unterschrift)

Danksagung

