

**Aus der Klinik für Gefäßchirurgie des Katharinenhospitals**

**Klinikum Stuttgart**

**Lehrkrankenhaus der Eberhard-Karls-Universität Tübingen**

**Prof. Dr. med. T. Hupp**

**Intravenöse Applikation von Dalteparin ( Fragmin ) im  
Vergleich zu**

**unfraktioniertem Heparin ( UFH ) in der rekonstruktiven  
Carotis-Chirurgie**

**Inaugural Dissertation**

**zur Erlangung des Doktorgrades**

**der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät**

**der Eberhard-Karls- Universität**

**zu Tübingen**

**vorgelegt von**

**Saffet Özkaya**

**aus Konya**

**2010**

- Dekan:** Professor Dr. I. B. Autenrieth
- 1. Berichterstatter:** Professor Dr. T. Hupp
- 2. Berichterstatter:** Professor Dr. K. Berger
- 3. Berichterstatter:** Professor Dr. Dr. h.c. G. Ziemer

## Inhaltsverzeichnis

<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS:</b> .....	<b>VI</b>
<b>TABELLENVERZEICHNIS:</b> .....	<b>VI</b>
<b>ÜBERSICHT, AUFBAU UND ZIEL DER STUDIE</b> .....	<b>VII</b>
<b>1. EINLEITUNG</b> .....	<b>1</b>
1.2 ANWENDUNG VON UNFRAKTIONIERTEM HEPARIN .....	3
1.3 PHARMAKOKINETIK VON UNFRAKTIONIERTES HEPARIN ( UFH ) .....	4
1.4 WEITERE KLINISCH RELEVANTE NACHTEILE VON UFH .....	5
1.4.1 Heparininduzierte Thrombozytopenie (HIT).....	5
1.4.2 Blutung/Hämatome .....	6
1.4.3 Heparin-induzierte Osteoporose.....	7
1.5 NIEDERMOLEKULARE HEPARINE .....	8
1.5.1 Pharmakokinetik von NMH .....	9
1.5.2 Blutung/Hämatome .....	9
1.5.3 Heparininduzierte Thrombozytopenie (HIT).....	10
1.5.4 Sicherheit der intravenösen Anwendung von NMH .....	11
1.5.5 Dosierung .....	11
<b>2. ZIEL DER UNTERSUCHUNG</b> .....	<b>15</b>
2.1.1 Hauptziel.....	16
2.1.2 Nebenziele.....	17
<b>3. PATIENTEN, MATERIAL UND METHODEN</b> .....	<b>18</b>
3.1 PATIENTEN.....	18
3.1.1 Einschlußkriterien .....	18
3.1.2 Ausschlußkriterien .....	18
Liste aller für die Studie erfaßten Patienten.....	20
3.1.3 Eingangsuntersuchung.....	20
3.1.3.1 Anamnese und körperliche Untersuchung .....	20
3.1.3.2 Weitere Untersuchungen .....	21

3.2	STUDIENDESIGN.....	22
3.3	HEPARIN .....	22
3.3.1	<i>Unfraktioniertes Heparin</i> .....	22
3.3.1.1	Antagonisierung .....	22
3.3.2	<i>Dalteparin (Fragmin®)</i> .....	23
3.3.2.1	Antagonisierung .....	23
3.3.3	<i>Medikamentöses Therapieschema</i> .....	24
3.3.3.1	Präoperative Medikation .....	24
3.3.3.2	Intraoperative Heparinabgabe.....	24
3.3.3.3	Postoperative Heparinabgabe.....	25
3.4	OPERATION .....	25
3.4.1	<i>Postoperative Überwachung</i> .....	26
3.5	LABORKONTROLLEN .....	26
3.5.1	<i>Routinelabor</i> .....	26
3.5.2	<i>Anti-Xa-/IIa-Spiegel-Messung</i> .....	27
3.6	BLUTVERLUST/HÄMATOME .....	27
3.6.1	<i>Intraoperativer Blutverlust</i> .....	27
3.6.2	<i>Hämatome</i> .....	28
3.7	NACHWEIS VON KOMPLIKATIONEN .....	29
3.7.1	<i>Nachweis einer arteriellen Thrombose der ACI</i> .....	29
3.7.2	<i>Nachweis eines ischämischen Hirninfarkts</i> .....	29
3.7.3	<i>Nachweis der Todesursache</i> .....	29
3.8	ABLAUFPLAN DER STUDIE (FLOW CHART).....	30
3.9	UNERWÜNSCHTE EREIGNISSE .....	31
3.9.1	<i>Abbruch der Studie</i> .....	32
3.10	STATISTIK.....	32
3.10.1	<i>Fallzahlbestimmung</i> .....	32
3.10.2	<i>Vorbereitung der Analyse</i> .....	33
3.10.3	<i>Hintergrundinformationen und Auswertung der Basisparameter</i> ...	34
3.10.4	<i>Wirksamkeitsauswertung</i> .....	34
3.10.5	<i>Sicherheitsauswertung</i> .....	35
<b>4.</b>	<b>ETHISCHE ANFORDERUNGEN .....</b>	<b>35</b>

<b>5. ERGEBNISSE</b> .....	<b>36</b>
ANTI-FAKTOR-IIA-AKTIVITÄT UND ANTI-FAKTOR-XA-AKTIVITÄT: BROWN-FORSYTHE TEST .....	46
<b>6. DISKUSSION</b> .....	<b>49</b>
<b>8. LITERATUR</b> .....	<b>55</b>

## Abbildungsverzeichnis:

Abbildung 1: Anti-IIa-Aktivität nach prä/intra/postoperativer Gabe von UFH ...	36
Abbildung 2: Anti-IIa-Aktivität nach prä/intra/postoperativer Gabe von Dalteparin .....	36
Abbildung 3: Anti-IIa-Aktivität nach prä/intra/postoperativer Gabe von UFH .....	37
Abbildung 4: Anti-IIa-Aktivität nach prä/intra/postoperativer Gabe von Dalteparin ..	37
Abbildung 5: Anti-Xa-Aktivität nach prä/intra/postoperativer Gabe von UFH..	38
Abbildung 6: Anti-Xa-Aktivität nach prä/intra/postoperativer Gabe von Dalteparin .....	38
Abbildung 7: Anti-Xa-Aktivität nach prä/intra/postoperativer Gabe von UFH...	39
Abbildung 8: Anti-Xa-Aktivität nach prä/intra/postoperativer Gabe von Dalteparin.....	39
Abbildung 09: ACT nach prä/intra/postoperativer Gabe von UFH .....	410
Abbildung 10: ACT nach prä/intra/postoperativer Gabe von Dalteparin .....	410
Abbildung 11: PTT nach prä/intra/postoperativer Gabe von UFH.....	41
Abbildung 12: PTT nach prä/intra/postoperativer Gabe von Dalteparin.....	41
Abbildung 13: Fibrinogen nach prä/intra/postoperativer Gabe von UFH .....	42
Abbildung 14: Fibrinogen nach prä/intra/postoperativer Gabe von Dalteparin ..	42

## Tabellenverzeichnis:

Tabelle 1: Dosierungsschema Fragmin®.....	14
Tabelle 2: Ablaufplan der Studie.....	30
Tabelle 3: Patientendaten und klinische Befunde.....	43
Tabelle 4: Deskriptive Statistik zu Anti-Faktor-IIa-Aktivität.....	44
Tabelle 5: Deskriptive Statistik zu Anti-Faktor-Xa-Aktivität .....	45
Tabelle 6: Brown-Forsythe Test.....	46
Tabelle 7: Dosierungsschema Fragmin® (neu) .....	52

## Übersicht, Aufbau und Ziel der Studie

**Indikation:** Gerinnungshemmung bei rekonstruktiven Carotis-Operationen (Carotis-TEA)

**Ziele:** 1. Vergleich zwischen unfraktioniertem Heparin (UFH) und niedermolekularem Heparin (Dalteparin) hinsichtlich der Variabilität der Anti-F-Xa-Aktivität und der Anti-F-IIa-Aktivität nach intravenöser Applikation.

2. Vergleich der Effektivität und Sicherheit von UFH und Dalteparin nach intravenöser Applikation während rekonstruktiven Carotis-Operationen:

- Häufigkeit von thromboembolischen Ereignissen in der endarterektomierten A.carotis interna nach Carotis-TEA
- Häufigkeit und Schweregrad von neurologischen Ausfällen nach Carotis-TEA
- Häufigkeit und Schweregrad von Blutungskomplikationen
- Häufigkeit und Schweregrad anderer unerwünschter Nebenwirkungen (z.B. Heparin-induzierte Thrombopenie (HIT I und II), allergische Hautreaktionen)

**Design:** Randomisierte, kontrollierte und prospektive Untersuchung mit verblindeter Auswertung der primären Zielvariablen.

**Kollektiv:** Patienten, die sich einer rekonstruktiven Operation der Carotis unterziehen.

**Patientenzahl:** n = 80 Patienten ( pro Gruppe 40 Patienten )

**Zielkriterien: Primär:**

Variabilität des Anti-Faktor-Xa-Spiegels und des Anti-Faktor-IIa-Spiegels nach intravenöser Gabe von unfraktioniertem Heparin bzw. Dalteparin zur intraoperativen arteriellen Thromboseprophylaxe bei elektiver Carotis-TEA.

**Sekundär:**

- Häufigkeit von thromboembolischen Ereignissen in der endarterektomierten A.carotis interna nach Carotis-TEA
- Häufigkeit und Schweregrad von neurologischen Ausfällen nach Carotis-TEA
- Häufigkeit und Schweregrad von Blutungskomplikationen
- Häufigkeit und Schweregrad anderer unerwünschter Nebenwirkungen (z.B. Heparin-induzierte Thrombopenie (HIT I und II), allergische Hautreaktionen)



## 1. Einleitung

Der apoplektische Insult mit seinen typischen Symptomen wurde bereits durch Hippokrates vor 2000 Jahren beschrieben. Der pathogenetische Zusammenhang zwischen dem apoplektischen Insult und dem Verschluss der A. carotis interna (ACI) wurde 1658 zuerst von WEPFER (59) erkannt und 1893 von GOWERS (21) für die moderne Medizin wieder entdeckt. Jedoch konnte sich die operative Therapie der Stenosen von supraaortalen Arterien erst in den 50er Jahren des 20. Jahrhunderts etablieren. Die Fortschritte in der Diagnostik supraaortaler Arterien und in der rekonstruktiven Gefäßchirurgie ermöglichten die erste erfolgreiche Thrombendarteriektomie (TEA) der Carotidgabel am 7. August 1953 durch DE BAKEY (Zitat aus 54). Seither verzeichnen Eingriffe an den vier Versorgungsarterien des Gehirns einen starken Anstieg mit einem ersten Höhepunkt Mitte der 80er Jahre und einem Wiederanstieg der Anzahl der Prozeduren seit 1991 (28). Verantwortlich hierfür ist die Erkenntnis, daß rund ein Drittel aller zerebrovaskulären Störungen durch extrakranielle Gefäßprozesse hervorgerufen werden und davon ca. 80 % einer chirurgischen Korrektur zugänglich sind (52). Weiterhin konnte in prospektiv randomisierten Multicenterstudien ein deutlicher Vorteil einer operativen Therapie gegenüber einer medikamentösen Therapie ab einem Stenosegrad von 70 % bewiesen werden (39, 17). Desweiteren konnte ganz aktuell ein Vorteil der operativen Therapie (Endarteriektomie) gegenüber der Stent-Implantation bei Carotis-Stenose nachgewiesen werden. Daher ist die Desobliteration von Stenosen geirnversorgender Gefäße eine wichtige Maßnahme zur Schlaganfallprophylaxe ab einem Stenosegrad von 70% (39,17). Eine bedeutende Komplikation dieser chirurgischen Schlaganfallprophylaxe ist jedoch gerade der apoplektische Insult. In der bisher umfangreichsten Untersuchung von Carotidesobliterationen mit insgesamt 10.561 ausgewerteten Eingriffen aus 10 amerikanischen Staaten konnten KRESOWIK et al. eine 30 Tage-Schlaganfallsrate von durchschnittlich 3,7 % und eine

kombinierte Schlaganfall-/Mortalitätsrate von 5,2% feststellten (30). Wesentliche pathogenetische Faktoren hierfür sind die arterielle Thrombose in der frisch thrombendarierektomierten ACI sowie die zerebrale Embolie (45). Daher war und ist die Hemmung der intravasalen Gerinnung von entscheidender Bedeutung während und nach rekonstruktiven operativen Eingriffen an den hirnversorgenden Gefäßen. Dazu galt bisher die Gabe von unfraktionierten Heparinen als Standard zur Prophylaxe von thromboembolischen perioperativen Ereignissen. Problematisch ist jedoch bei der Gabe von unfraktionierten Heparinen, dass diese keine 100% -ige Bioverfügbarkeit haben. Unter Umständen können über 50% des UFH durch Eiweißbindung im Blut inaktiviert werden. Somit bedeutet eine unüberprüfte, ungetriggerte Einmalgabe eines Standard-Heparins (UFH) im Rahmen der Carotis-Chirurgie - wie es als Standardgabe z.B. von 5000 IE Heparin in den meisten Kliniken erfolgt – ein unkalkulierbares Risiko in Bezug auf perioperativen Thromboembolieschutz. Diese randomisierte prospektive Studie sollte die Variabilität des Anti-Faktor-Xa und IIa- Spiegels nach i.v. Gabe von Standard-Heparin (UFH) bzw. von niedermolekularem Heparin (NMH, Dalteparin) aufzeigen und vergleichen sowie die Häufigkeit und Schweregrad von thromboembolischen Ereignissen, von neurologischen Ereignissen, von Blutungskomplikationen und anderen unerwünschten Nebenwirkungen von UFH oder von NMH während einer Carotis-Revaskularisation (Carotis-TEA) offenlegen.

## **1.1 Heparine**

Natives Heparin ist ein saures Polysaccharid. Quellen zu Gewinnung sind Lunge, Leber und Darmschleimhaut von Rindern und Schweinen. Bausteine des Heparins sind Glukosamin, Glucuronsäure und Iduronsäure. Tetrasaccharid gilt als kleinster Baustein. Diese Bausteine sind zu einem unterschiedlichen Grad sulfatiert und carboxyliert. Die Molekülmasse ist stark schwankend und liegt zwischen 3.000 und 30.000 Dalton. Die durchschnittliche relative Molekülmasse liegt bei 12.000 bis 15.000 Dalton

Das in Deutschland im Handel befindliche Heparin wird ausschliesslich aus Schweinedarm gewonnen. Nach Gewinnung und Aufbereitung wird die Substanz einer biologischen Wertbestimmung unterzogen. Die gerinnungshemmende Wirkung wird an rekalkifiziertem Citratplasma vom Schaf bestimmt und in internationalen Einheiten ( I.E. ) angegeben. Als Standard dient ein aus Schweinedarmmukosa gewonnener WHO-Referenzstandard. In 1 mg Standardheparin sind etwa 170 I.E. enthalten.

Bedingt durch seine starke negative Ladung und sein hohes Molekulargewicht wird Heparin nicht vom Darm resorbiert und kann nur parenteral appliziert werden.

Die heute verwendeten Heparine gliedern sich in unfraktioniertes Standardheparin und in niedermolekulare Heparine.

## **1.2 Anwendung von unfraktioniertem Heparin**

MURRAY et al. konnten bereits 1940 den positiven Effekt von unfraktioniertem Heparin auf die Offenheitsrate von Gefäßen nachweisen (38). Seither fand die Anwendung von unfraktioniertem Heparin in der rekonstruktiven Gefäßchirurgie eine immer größere Verbreitung und ist heute eine allgemein akzeptierte Methode der intraoperativen Gerinnungshemmung (31), die mit einer signifikant geringeren Komplikationsrate (Apoplex/Tod) verbunden ist (47). PIEPGRAS et al. konnten anhand von endarteriektomierten Katzenkarotiden zeigen, daß die Anwendung von UFH im Vergleich zu ASS und Warfarin einen Frühverschuß verhindert (43). Die intraoperativ verabreichte Heparindosis unterscheidet sich bei den verschiedenen Operateuren erheblich. Einerseits werden pauschale Mengen an UFH von 400 I.E bis zu 20.000 I.E (46) intravenös appliziert, andererseits körperrgewichtsadaptierte Dosierungsschemata angewendet, beispielsweise 70 I.E/kg bis 100 I.E/kg (34, 13, 10). Dabei basiert die Anwendung dieser Dosierungen bei gefäßchirurgischen Eingriffen auf empirischen Daten und nicht auf Daten aus kontrollierten klinischen Studien. Zudem findet sich in der Literatur kein Konsens über die erforderliche

Heparinkonzentration zur Vermeidung von thromboembolischen Komplikationen (35).

### **1.3 Pharmakokinetik von unfraktioniertes Heparin ( UFH )**

Unfraktioniertes Heparin besteht aus einer heterogenen Mischung sulfatierter Polysaccharide mit einem Molekulargewicht von ca. 10.000 – 12.000 Dalton. Heparin verstärkt die Inaktivierung von Thrombin durch Antithrombin und Heparin- Kofaktor 2. Es verstärkt die Inaktivierung von Faktor Xa durch Antithrombin.

Die Unterschiede im interindividuellen Ansprechen auf UFH sind groß, da diese Substanz von verschiedenen Proteinen wie zum Beispiel den Akute-Phase-Proteinen und dem Plättchenfaktor 4 neutralisiert und aufgrund einer nur etwa 25% igen Bioverfügbarkeit nach Subcutangabe schwer zu dosieren ist.

Limitierend wirkt weiterhin, dass die Heparin – Antithrombinkomplexe aus räumlichen Gründen im Gerinnsel gebundenes Thrombin nicht inaktivieren können. Da sich unfraktionierte Heparine durch ihre überwiegend großen Moleküle und den damit verbundenen zahlreichen Bindungsstellen an viele Plasmaeiweiße binden, wird häufig anders als bei der Bindung mit Antithrombin keine gerinnungshemmende Wirkung erreicht. Daraus resultierend liegt die Bioverfügbarkeit der unfraktionierten Heparine bei ungefähr 25%. Durch unterschiedliche Plasmaeiweißkonzentrationen wird eine erhebliche Mittelwertschwankung bedingt, die wiederum eine für Sicherheit und Wirkung nachteilige Dosisschwankung zur Folge hat.

Die Variabilität der verwendeten Dosis kann zudem durch die Pharmakokinetik von UFH begründet werden. Die Elimination von UFH ist dosisabhängig und erfolgt zunächst über einen schnellen Mechanismus durch Bindung an Endothelzellen. Dieser Abbauweg unterliegt einer Sättigung. Die Ausscheidung von Heparin über die Nieren erfolgt dagegen langsam und ohne Sättigung (12). Dies führt zu einer steigenden Halbwertszeit bei zunehmender Dosis (5).

War unfraktioniertes Heparin vor mehr als 20 Jahren als Standard zur Prophylaxe von TVT und Lungenembolie noch unanfechtbar, so ist durch die bessere klinische Wirkung der niedermolekularen Heparine der Einsatz von UFH rückläufig. Eine weitaus höhere absolute Bioverfügbarkeit nach subcutaner Gabe, längere Eliminationshalbwertszeiten sowie die Einmalgabe pro Tag und die dosis- lineare Eliminationskinetik über die Niere sprechen für den Einsatz der niedermolekularen Heparine. Bei ihrem Einsatz, der in Effektivität und Verträglichkeit ebenbürtig ist, kann auf die aPTT- Messung verzichtet werden. Aus diesen speziellen Eigenschaften ergeben sich die interindividuellen Unterschiede der Heparinwirkung bei verschiedenen Patienten, so daß bei der Verwendung von UFH zur Gerinnungshemmung ein intraoperatives Monitoring der antikoagulatorischen Wirkung vorgeschlagen wird (44).

#### **1.4 Weitere klinisch relevante Nachteile von UFH**

Neben der ausgesprochenen Variabilität der Heparinwirkung bei verschiedenen Patienten sind mit der Anwendung von unfraktioniertem Heparin weitere klinisch relevante Nachteile verbunden.

##### **1.4.1 Heparininduzierte Thrombozytopenie (HIT)**

Die heparininduzierte Thrombozytopenie (HIT) wird aufgrund ihrer Entstehungsmechanismen in zwei Unterformen eingeteilt.

Die HIT I tritt mit einer Inzidenz von bis zu 28% bei Patienten unter Heparintherapie auf (56). Der Entstehungsmechanismus beruht auf einer direkten Interaktion zwischen Heparin und den Thrombozyten und ist nicht durch Immunglobuline vermittelt. Typischerweise treten bei einer HIT I Thrombozytopenien bis minimal  $100 \text{ T}/\mu\text{l}$  auf, die sich auch unter Fortsetzung

der Heparintherapie normalisieren. Thromboembolische Komplikationen sind bei dieser Form der HIT nicht bekannt (56).

Die Inzidenz der HIT II wird in einer Literaturübersicht von EDER et al. (14) mit 0,5-5 % angegeben. Der pathogenetische Mechanismus der HIT II beruht auf einer Antikörperbildung des Patienten unter Heparintherapie. Das Antigen stellt hierbei ein Komplex aus Plättchenfaktor 4 und Heparin dar (22). Nach einer Sensibilisierungsphase von 5-20 Tagen kommt es zu einer Thrombozytenaktivierung über eine Bindung der Immunkomplexe an die Thrombozyten (23, 56). Kennzeichnend für eine HIT II sind Thrombozytopenien  $< 100 \text{ T}/\mu\text{l}$  bzw. Thrombozytenabfälle um mehr als 50 % des Ausgangswertes (55) und/oder thromboembolische Komplikationen wie die proximale tiefe Beinvenenthrombose, die Lungenarterienembolie und arterielle Thrombosen (56).

#### **1.4.2 Blutung/Hämatome**

Eine Gerinnungshemmung mit Heparin ist mit einem erhöhten Risiko für Blutungskomplikationen und Hämatomen verbunden. Dabei nimmt das Risiko Heparin-assoziiertes Blutungen mit steigender Dosis zu (37). ZIDANE et al. konnten in einer Übersicht aus 15 klinischen Studien ein Auftreten schwerwiegender Blutungen bei durchschnittlich 4 % aller Patienten unter therapeutischer Dosierung feststellen, allerdings mit einer Variationsbreite von 0-20% (60). Dabei werden schwerwiegende Blutungen von ZIDANE et al. wie folgt definiert.

Blutungen, die Hämoglobinkonzentration im Blut um mehr als 2 g/dl senken die Transfusion von zwei oder mehr Erythrozytenkonzentraten erfordern sich intraperitoneal, intrakraniell oder gastrointestinal manifestieren eine Unterbrechung der Behandlung erfordern zum Tod führen.

Insbesondere die Ausbildung von Hämatomen ist in der Carotischirurgie von besonderer Bedeutung. Eine Einblutung in die Halsweichteile kann zu einer Kompression der Luftwege und damit zu einer Atembehinderung führen, die

unter Umständen eine Reintubation des Patienten erfordert (58). Die Inzidenz wird in der Literatur mit 1-12% angegeben (36, 50). Dabei werden Hämatome nach Carotis-TEA wie folgt definiert.

Hämatome, die

- eine Reintubation und/oder
- eine Wundrevision erfordern.

Risikofaktoren für die Formation von Hämatomen sind u.a. Intubationsnarkose, Verwendung eines intraluminalen Shunts, intraoperative Hypertonie, präoperativer ASS-Gebrauch sowie der Verzicht auf eine Antagonisierung des Heparins mit Protamin (50). Weiterhin wurde die postoperative Hypertonie mit systolischen Blutdruckwerten über 170 mmHg als Risikofaktor identifiziert (32).

#### **1.4.3 Heparin-induzierte Osteoporose**

Die heparin-induzierte Osteoporose spielt bei der rekonstruktiven Carotischirurgie in der Regel keine Rolle. Lediglich die prolongierte Anwendung von UFH geht mit einem erhöhten Osteoporoserisiko einher. Dabei kommt es bei einer Therapiedauer von mehr als einem Monat bei ca. 30% der Patienten zu einer signifikanten Reduktion der Knochendichte und bei 2-3% der Patienten zu symptomatischen Wirbelfrakturen (26).

#### **1.4.4 Anforderung an eine optimale Antikoagulation**

Die Anwendung von Heparin zur Hemmung der intravasalen Gerinnung in der rekonstruktiven Gefäßchirurgie ist ein Balanceakt. Einerseits müssen thromboembolische Komplikationen vermieden werden, andererseits ist der Einsatz von Heparin mit einer erhöhten Inzidenz von Nachblutungen und der Gefahr einer HIT II verbunden. Insbesondere in der Carotischirurgie ist die

suffiziente und verlässliche Antikoagulation von besonderer Bedeutung, da thromboembolische Ereignisse hier zu einem invalidisierenden Apoplex oder Tod führen können. Jedoch sind Nachblutungen mit Ausbildung eines zervikalen Hämatoms ebenfalls mit einer erhöhten Morbiditäts- und Mortalitätsrate verbunden. Daher muß an die intraoperative Antikoagulation folgende Forderung gestellt werden:

1. geringe interindividuelle Variation der Wirkung
2. vorhersehbare Wirkung bei verschiedenen Dosierungen
3. berechenbare Elimination des Antikoagulans
4. möglichst geringe Komplikationsrate (z.B. Blutung, HIT II)
5. Möglichkeit der Antagonisierung

### **1.5 Niedermolekulare Heparine**

Niedermolekulare Heparine (NMH) entstehen aus UFH durch chemische oder enzymatische Depolymerisation. Das mittlere Molekulargewicht dieser UFH-Fragmente liegt bei 4500 – 5000 Dalton mit einer Variationsbreite von 1000 bis zu 10000 Dalton (26). Der Wirkungsmechanismus von NMH beruht im Gegensatz zu UFH hauptsächlich auf eine Hemmung des Gerinnungsfaktors Xa und zu einem geringeren Anteil auf einer Hemmung von Thrombin. Die Hemmung von Thrombin ist nur durch Heparinfragmente mit einer Molekülgröße von mindestens 18 Monosacchariden möglich, dies entspricht einem Molekulargewicht von ca. 5400 Dalton (24). Die zugelassenen NMH unterscheiden sich in ihrer Zusammensetzung. Dabei ist die Verteilung der Heparinfragmente mit ihren unterschiedlichen Molekulargewichten entscheidend für die Wirkung des jeweiligen Präparates. Bei einem definierten Anti-F-Xa zu Anti-F-IIa- Verhältnis von 1:1 für UFH variiert dieses Verhältnis bei den verschiedenen zugelassenen Preparationen von 2:1 bis zu 4:1 (24). Neben dem Unterschied im antikoagulatorischen Wirkungsmechanismus zwischen



UFH und NMH konnten bei niedermolekularen Heparinen entscheidende Vorteile bezüglich der Pharmakokinetik festgestellt werden.

### **1.5.1 Pharmakokinetik von NMH**

Unterschiede in den pharmakokinetischen Eigenschaften von UFH und NMH wurden bereits 1979 von ANDERSSON et al. beschreiben (3). Seine Arbeitsgruppe machte die Beobachtung, daß die Anti-F-Xa-Aktivität von niedermolekularen Heparinen im Gegensatz zu UFH nicht durch Plasmaproteine beeinflusst wird. Der Grund hierfür ist eine geringere Affinität der NMH zu Plättchenfaktor 4 (33), von Willebrand-Faktor (51), Fibronectin (11) und histidinreichen Glykoprotein (HRGP) (33). Die geringere Anzahl von unspezifischen Bindungen mit diesen Plasmaproteinen ist für die erheblich bessere Bioverfügbarkeit von NMH mit ca. 90 % im Vergleich zu UFH mit ca. 25 % bei subkutaner Applikation verantwortlich (4). Die gerinnungshemmende Wirkung von NMH ist daher einer nur minimalen interindividuellen Variabilität unterworfen. Weiterhin binden niedermolekulare Heparine in einem geringeren Umfang an Endothelzellrezeptoren - die Aufnahme von Heparin in Endothelzellen spielt vor allem bei der schnellen Elimination von UFH eine entscheidende Rolle und führt dort zu einer ansteigenden Halbwertszeit bei zunehmender Dosis. Die Elimination von NMH ist daher dosisunabhängig und folgt einer Kinetik 1. Ordnung mit einer 2-4 fach längeren Halbwertszeit im Vergleich zu UFH (4, 7). Da die Ausscheidung von niedermolekularen Heparinfragmenten über die Niere erfolgt, ist bei niereninsuffizienten Patienten mit einer ansteigenden Halbwertszeit zu rechnen (40).

### **1.5.2 Blutung/Hämatome**

Die Interaktion von UFH mit dem von Willebrand-Faktor der Endothelzellen verhindert die Adhäsion und Aggregation der Thrombozyten (51). Zudem

verhindert UFH die kollagenvermittelte Thrombozytenaggregation (18) und erhöht die Permeabilität der Gefäße (6). Diese Effekte können unter UFH zu Blutungen führen. Bei NMH sind diese Effekte geringer bzw. nicht nachweisbar, so daß bei äquivalenter antithrombotischer Wirkung eine geringere Blutungsinzidenz erwartet werden kann (24). In tierexperimentellen Arbeiten konnte bei der Anwendung von NMH ein reduzierter Blutverlust bei gleicher oder sogar erhöhter antithrombotischer Aktivität festgestellt werden (8, 9). Diese Ergebnisse werden von klinischen Untersuchungen bestätigt. In einer Metaanalyse von 11 randomisierten Studien an 3500 Patienten mit tiefer Beinvenenthrombose konnte bei dem Vergleich der intravenösen UFH-Gabe mit subkutaner NMH-Applikation eine Tendenz zu geringeren Blutungskomplikationen bei der Anwendung von NMH festgestellt werden (20). KAKKAR et al. (29) untersuchten in einer randomisierten Studie mit 3.809 Patienten die Blutungssicherheit der Thromboseprophylaxe mit Dalteparin im Vergleich zu UFH bei abdominalchirurgischen Eingriffen. Dabei konnten sie eine signifikant geringere Inzidenz schwerwiegender Blutungen und Wundhämatome unter Dalteparin feststellen. In einer weiteren prospektiv randomisierten Untersuchung zur Thromboseprophylaxe bei Hüftgelenksersatz mit 136 Patienten konnten ERIKSSON et al. (15) zeigen, daß die Anwendung von Dalteparin im Vergleich zu UFH mit einem signifikant geringeren postoperativen Blutverlust und Transfusionsbedarf verbunden ist.

### **1.5.3 Heparininduzierte Thrombozytopenie (HIT)**

WARKENTIN et al. (56) untersuchten an 665 Patienten die Inzidenz von HIT II und heparininduzierter Antikörper gegen der Heparin/PF 4-Komplex bei der Anwendung von UFH bzw. NMH (Enoxaparin) zur Thromboseprophylaxe bei Hüftgelenksersatz. Dabei wurden bei 7,4% der mit UFH behandelten Patienten HIT-Antikörper nachgewiesen, während nach niedermolekularem Heparin solche Antikörper nur bei 2,2% gefunden wurden. Keiner der 333 mit NMH behandelten Patienten entwickelte eine Thrombozytopenie oder thrombo-

embolische Komplikationen, während eine Thrombozytopenie bei 2,7% der mit UFH behandelten Patienten festgestellt wurde. Eine manifeste HIT II war zu 89% mit thromboembolische Komplikation verbunden (56).

#### **1.5.4 Sicherheit der intravenösen Anwendung von NMH**

Die Sicherheit der intravenösen Anwendung von niedermolekularen Heparinen ist in zahlreichen Studien belegt worden. Bereits 1983 konnte ein NMH erfolgreich bei einem Eingriff mit Herz-Lungen-Maschine eingesetzt werden (19). Insbesondere für die intravenöse Anwendung von Dalteparin liegen aus dem Bereich der Hämodialyse fundierte Daten vor, die die Effektivität und Sicherheit dieses NMH beweisen (48). Dalteparin ist daher für die intravenöse Applikation im Rahmen der Hämodialyse/-filtration seit 1985 zugelassen. Weitere Untersuchungen von ALBADA et al. (1) zur intravenösen Gabe von Dalteparin bei der Therapie der tiefen Beinvenenthrombose sowie von WEILEMANN et al. (57) zur i.v.-Gabe bei Sepsis konnten ebenfalls keine nachteiligen Effekte nachweisen. Insbesondere bei der Anwendung von Dalteparin bei manifester Sepsis konnte trotz hoher Dosierungen mit durchschnittlich 800 I.E. Anti-F-Xa/h (19200 I.E./die) keine signifikanten Thrombozytenabfälle oder Blutungen beobachtet werden. Mit einer erhöhten Komplikationsrate bei der intravenösen Gabe von NMH ist nicht zu rechnen.

#### **1.5.5 Dosierung**

Die Dosierung von Dalteparin richtet sich nach der Anti-F-Xa-Aktivität. Dabei wird der therapeutische Bereich bei zweimaliger subkutaner Applikation/Tag zur Vermeidung thromboembolischer Ereignisse mit 0,5 – 1,0 I.E./ml angegeben (2). ALBADA et al. erlangten mit einer um 50% reduzierten Dalteparin-Dosis im Vergleich zur applizierten UFH-Dosis (bezogen auf I.E.) bei intravenöser Gabe eine Anti-F-Xa-Aktivität zwischen 0,4 – 0,9 I.E./ml (1). In einer Untersuchung

von SCHRADER bei der intravenösen Anwendung von Dalteparin im Rahmen der Hämodialyse konnte mit einer um 1/3 reduzierten NMH-Dosis im Vergleich zur UFH-Dosis eine Anti-F-Xa-Aktivität zwischen 0,6 – 0,75 I.E./ml erzielt werden (49). BRATT et al. untersuchten die Anti-F-Xa-Aktivität nach der i.v.-Gabe eines Bolus von 40 I.E. Anti-F-Xa/kg KG Dalteparin und konnten hiermit eine initiale Anti-F-Xa-Aktivität von ca. 1,2 I.E./ml erreichen. Die Anti-F-Xa-Aktivität blieb ca. zwei Stunden im therapeutischen Bereich (7).

SWEDENBORG et al. (52) untersuchten bereits die Wirksamkeit und Sicherheit von Dalteparin als Antikoagulant während infrainguinaler Bypassanlage im Vergleich zu UFH. Dabei erhielten jeweils 9 Patienten intraoperativ 70 I.E. Anti-FXa/kg KG Dalteparin bzw. UFH intravenös. Dalteparin zeigte sich bezüglich Effektivität und Sicherheit gleichwertig mit UFH. Eine weitere Untersuchung von SAMAMA et al. (48), in die insgesamt 201 Patienten eingeschlossen wurden, zeigt ebenfalls eine gleichwertige Sicherheit von NMH im Vergleich zu UFH als intraoperatives Antikoagulant bei femorodistaler Bypassanlage. Dabei erhielten 100 Patienten intraoperativ 75 I.E. Anti-FXa/kg KG Enoxaparin i.v. und 101 Patienten 50 I.E./kg KG UFH i.v.. Zudem wurde der Bypass mit einer Lösung aus 25.000 I.E. Anti-FXa Enoxaparin in 250 ml NaCl in der NMH-Gruppe bzw. 25.000 I.E. UFH in 250 ml NaCl in der UFH-Gruppe gespült. Die Nachbehandlung erfolgte mit 2 x 75 I.E. Anti-FXa/kg Enoxaparin s.c. in der NMH-Gruppe und 2 x 150 I.E. UFH s.c. in der Kontrollgruppe, wobei die erste s.c.-Applikation 8 Stunden nach der i.v.-Gabe erfolgte. Bezüglich der Offenheitsrate zeigte sich allerdings eine Überlegenheit von Enoxaparin gegenüber UFH – Bypassverschlüsse in der NMH-Gruppe: 8, in der UFH-Gruppe: 22. Da jedoch insgesamt 12 % schwere Blutungen in beiden Gruppe auftraten wird in dem vorliegenden Prüfplan eine geringere Dosis des NMH gewählt. Aufgrund der umfangreichen Erfahrung mit Dalteparin in der Hämodialyse wird die Dalteparindosis in dieser Studie mit ca. 2/3 der gebräuchlichen UFH-Dosis festgesetzt. Sie lässt sich daher wie folgt berechnen.

Bisher verwendete UFH-Dosis bei Carotis-TEA: 3000 I.E.  
Dalteparin-Dosis (ca. 2/3 UFH-Dosis): 2000 I.E.

In Anbetracht der potentiell prä-operativ noch bestehenden Anti-Xa-Spiegel im Plasma – durch die Vorabend-Gabe von Fragmin – wurde die Dosierung dem Körpergewicht angepaßt. Basierend auf einem – im Patientengut der Klinik vertretenen - durchschnittlichen Körpergewicht von 75 kg, erfolgte die Berechnung:

UFH-Dosis bei Carotis-TEA: 3000 I.E./75 kg  $\approx$  40 I.E./kg KG  
Dalteparin-Dosis (ca. 2/3 UFH-Dosis): 2000 I.E./75 kg  $\approx$  27 I.E./kg KG

Auf Grundlage der von Bratt et al. (7) gemessenen Anti-Xa-Aktivität nach intravenöser Applikation von Dalteparin werden nach einer Dosierung von  $\approx$  27 I.E. Dalteparin/kg KG therapeutische Anti-Xa-Aktivitäten (0,5 – 1,0 IE/ ml) erwartet. Die Anti-F-Xa-Aktivität und Anti-F-IIa-Aktivität wird in dieser Studie bei jedem Patienten vor dem Eingriff, nach der i.v-Bolusgabe und vor der nächsten Dalteparin-Gabe am OP-Tag bestimmt. Ggf. wird dann die Dosis an den therapeutischen Bereich angepaßt.

Aus Gründen der Praktikabilität wird das folgende Dosierungsschema verwendet:

**Tabelle 1: Dosierungsschema Fragmin®**

Frauen kg/ KG	Männer kg/KG	I.E. Fragmin	
50	40	1.350	1.500 I.E.
55	45	1.485	
60	50	1.620	
65	55	1.755	2.000 I.E.
70	60	1.890	
75	65	2.025	
80	70	2.160	
85	75	2.295	2.500 I.E.
90	80	2.430	
95	85	2.565	
100	90	2.700	3.000 I.E.

Wegen des geringeren Fettanteils und damit größeren Blutvolumens pro kg Körpergewicht wurden die Gewichtsgrenzen bei Männern um jeweils 10 kg niedriger angesetzt.

## 2. Ziel der Untersuchung

Die Anwendung von NMH hat im Vergleich zu der Anwendung von UFH folgende Vorteile:

1. Geringe interindividuelle Variabilität der antikoagulatorischen Wirkung bei intravenöser Anwendung.
2. Hohe Bioverfügbarkeit bei intravenöser Anwendung.
3. Geringere Inzidenz der heparininduzierten Thrombozytopenie Typ II.
4. Die Elimination folgt einer Kinetik 1. Ordnung, daher berechenbarer Wirkungsverlust.
5. Aufgrund der 2-4 fach längeren Halbwertszeit als UFH sind längere Applikationsintervalle möglich.

Eine besondere Bedeutung für den klinischen Alltag kommt dabei der Variabilität der Anti-F-Xa-Aktivität und der Anti-F-IIa-Aktivität bei subkutaner Applikation zu. Eine geringe interindividuelle Variabilität führt zu einer vorhersehbaren antikoagulatorischen Wirkung bei verschiedenen Dosierungen – ein Monitoring ist daher nicht notwendig. ERIKSSON et al. (16) untersuchten die Variabilität der Anti-F-Xa-Aktivität und der Anti-F-IIa-Aktivität bei subkutaner Applikation von Dalteparin bzw. UFH. Dabei zeigte sich nach Gabe von 5000 I.E. UFH eine Variabilität der Anti-F-Xa-Aktivität von  $\pm 53$  % und der Anti-F-IIa-Aktivität von  $\pm 80$  %. Die Applikation von 5000 I.E. Anti-F-Xa Dalteparin ergab eine deutlich geringere Variabilität der Anti-F-Xa-Aktivität mit  $\pm 26$  % und der Anti-F-IIa-Aktivität mit  $\pm 32$  %.

Diese Vorteile, verbunden mit einer gleichen oder sogar erhöhten Effektivität und einem möglicherweise geringeren Blutungsrisiko machen niedermolekulare Heparine nicht nur für die subkutane Thromboseprophylaxe sondern auch für den intravenösen Einsatz in der Gefäßchirurgie interessant. Aufgrund der deutlichen Vorteile von NMH gegenüber UFH wird in unserer Klinik bereits seit 1998 sowohl die Thromboseprophylaxe als auch die therapeutische Heparinisierung mit dem niedermolekularen Heparin Dalteparin durchgeführt.

Durch die intraoperative Anwendung von UFH bedeutet dies für den Patienten eine Kombination von Dalteparin mit UFH. Die Variabilität der Anti-F-Xa-Aktivität und der Anti-F-IIa-Aktivität nach intravenöser Applikation von UFH oder Dalteparin bei Patienten, die zuvor Dalteparin in prophylaktischer oder therapeutischer Dosierung subkutan erhalten haben, wurde bisher noch nicht untersucht.

Die Kombination von UFH mit Dalteparin ist aufgrund weiterer pharmakologischer Überlegungen nicht optimal. PEREZ-REQUEJO et al. (42) untersuchten die gleichzeitige Gabe von 2000 I.E Anti-F-Xa eines NMH (Enoxaparin) mit 1000 I.E UFH bei subkutaner Applikation. Dabei konnten sie durch Messung der erzielten Anti-F-Xa-Aktivität nach alleiniger Gabe von NMH bzw. UFH + NMH einen supraadditiven Anstieg der Anti-F-Xa-Aktivität bei der Kombination NMH mit UFH beobachten – UFH: + 33 %, NMH: + 93 %, UFH und NMH: + 282 % Anstieg der Anti-F-Xa-Aktivität. Dieser nicht kontrollierbare Anstieg der Anti-F-Xa-Aktivität kann theoretisch zu einer erhöhten Inzidenz von Blutungskomplikationen führen und ist daher in der Carotis-Chirurgie nicht erwünscht.

### **2.1.1 Hauptziel**

Die primäre Zielsetzung dieser prospektiven Studie ist die Untersuchung der Variabilität der Anti-F-Xa-Aktivität und der Anti-F-IIa-Aktivität nach intravenöser Applikation von UFH bzw. Dalteparin zur intraoperativen arteriellen Thromboseprophylaxe in der rekonstruktiven Carotis-Chirurgie. Die zu prüfende Hypothese lautet:

*Die intraoperative Anwendung von Dalteparin im Rahmen der Carotis-TEA ist mit einer geringeren Variabilität der Anti-F-Xa-Aktivität und der Anti-F-IIa-Aktivität im Vergleich zu der Anwendung von UFH verbunden.*



### **2.1.2 Nebenziele**

Nebenziele dieser Studie sind die Untersuchung der Effektivität und Sicherheit der intraoperativen arteriellen Thromboseprophylaxe mit Dalteparin in der rekonstruktiven Carotis-Chirurgie sowie die Erfassung von Nebenwirkungen, die unter der Therapie mit Dalteparin und UFH auftreten können (insbesondere HIT II).

### **3. Patienten, Material und Methoden**

#### **3.1 Patienten**

In diese Studie sollen 80 aufeinanderfolgende Patienten eingeschlossen werden, bei denen die Indikation zu einer elektiven Carotidesobliteration gestellt wurde. Unter Berücksichtigung der Einschluß- und Ausschlußkriterien sollen die Patienten nach Aufklärung und Abgabe des schriftlichen Einverständnisses randomisiert zwei Gruppen zugeteilt werden. Bei gleichen präoperativen Bedingungen soll eine Gruppe intraoperativ UFH, die korrespondierende Gruppe intraoperativ Dalteparin erhalten.

##### **3.1.1 Einschlußkriterien**

- Patienten mit einer Stenose der ACI und einem Stenosegrad  $>70\%$  und  $< 90\%$  nach ECST-Kriterien (0), bei denen die Indikation zu einer elektiven Carotidesobliteration gestellt wurde.
- Alter  $\geq 18$  Jahre.
- Einwilligung des Patienten zur Teilnahme an dieser Studie.

##### **3.1.2 Ausschlußkriterien**

- Body mass index (BMI)  $< 18$  und  $> 30 \text{ kg/m}^2$ .
- Gleichzeitige Teilnahme an einer anderen Studie.
- Moribunder Patient.
- ASS-Einnahme innerhalb der letzten 2 Tage vor der Operation.
- Clopidogrel-Einnahme innerhalb der letzten 7 Tage vor der Operation.
- Ticlopidin-Einnahme innerhalb der letzten 7 Tage vor der Operation.

- Patient nach kürzlich erfolgter anderer Operation (weniger als 14 Tage zurückliegend), wenn mit der Operation ein erhöhtes Blutungsrisiko oder eine Immobilisierung verbunden ist.
- Hirnblutung/Schädelhirntrauma/Schädel-OP/OP am ZNS, die weniger als 8 Wochen zurückliegen.
- Strahlen-/Chemotherapie.
- Schwere systemische Erkrankungen, z.B.:
  - Schwere Lebererkrankungen (Quick < 80%).
  - Mittelgradig bis schwere Niereninsuffizienz.
  - Schwere Bauchspeicheldrüsenerkrankungen (z.B. akute Pankreatitis).
- Erkrankungen, die mit einer erhöhten Blutungsbereitschaft einhergehen, z.B.:
  - Hämorrhagische Diathese.
  - Schwere Thrombozytopenien ( $\leq 100.000 / \mu\text{l}$ ).
  - Hypermenorrhoe.
  - Nieren- und/oder Harnleitersteine.
  - Magen- und/oder Darmgeschwüre.
  - $\text{RR}_{\text{diast}} > 105 \text{ mmHg}$ .
  - Hämorrhagischer apoplektischer Insult (nicht länger als drei Monate zurückliegend).
  - Hirnarterienaneurysma.
  - Retinopathien.
  - Glaskörperblutungen.
  - Endocarditis.
- Unverträglichkeit von Dalteparin oder UFH in der Anamnese.
- Schwangerschaft.
- gravierende Blutbildauffälligkeiten (Anämie, Leukopenie, Thrombopenie).
- Allergie gegen jodhaltige Kontrastmittel.

## **Liste aller für die Studie erfaßten Patienten**

Alle Patienten, die in die Studie eingeschlossen worden sind, werden in einer Liste geführt. Diese enthält die nachstehenden Patientendaten: Name, Geburtsname und Vornamen, Geburtsdatum und Datum des Einschlusses. Durch eine gesonderte Auflistung der Patienten, die eine Therapieoption favorisieren und nicht randomisiert werden können, soll bei Bedarf eine retrospektive Evaluation ermöglicht werden, wenn dieses nach Abschluß der Studie sinnvoll erscheint. Weiterhin werden die Quelldaten der eingeschlossenen Patienten in Fallberichtsbögen, sog. „Case Report Forms“ (CRFs), in anonymisierter Form übertragen (ohne Namensnennung – nur mit Patienten-Nummer).

Die genannten Auflistungen werden vom Prüfarzt geführt.

### **3.1.3 Eingangsuntersuchung**

#### **3.1.3.1 Anamnese und körperliche Untersuchung**

Vor Einschluß in die Studie wird eine Anamnese und eine körperliche Untersuchung durchgeführt. Es werden Alter, Geschlecht, Risikofaktoren der Patienten, Begleiterkrankungen, Allergien, Begleitmedikation, Voroperationen und Ausprägung der ACI-Stenose in % (ESCT) dokumentiert. Weiterhin erfolgt die Erhebung der Familienanamnese mit besonderem Augenmerk auf Thrombosen und thromboembolischen Ereignissen und eine Stadieneinteilung der zerebrovasculären Insuffizienz. Diese wird wie folgt klassifiziert:

- Stadium I: Stenosen ohne Symptomatik
- Stadium IIa: TIA ( Augensymptomatik )
- Stadium IIb: TIA ( Hemisymptomatik )
- Stadium III: PRIND. Fortschreitender Insult (progressive stroke)
- Stadium IV: Kompletter Apoplex

### **3.1.3.2 Weitere Untersuchungen**

Vor Einschluß in die Studie wird zusätzlich ein Schädel-CT mit Kontrastmittel durchgeführt, um Hirnblutungen bzw. Blut-Hirn-Schrankenstörungen auszuschließen. Bei thromboembolischen Ereignissen in der Eigen- oder Familienanamnese erfolgt eine Thrombophiliediagnostik.

Folgenden Laborparameter werden kontrolliert: Hämoglobin, Hämatokrit, Erythrozytenzahl, Thrombozytenzahl, Leukozytenzahl, Quick, PTT, Fibrinogen, Serumelektrolyte, Serumkreatinin, Serumharnstoff, Serumtransaminasen, Serumcholesterin und Serumtriglyzeride, TSH, fT<sub>4</sub>, fT<sub>3</sub>, Blutzucker. Weiterhin erfolgen im Rahmen der Operationsvorbereitung EKG und bei Bedarf Röntgen-Thorax.

## **3.2 Studiendesign**

Die Studie ist randomisiert, prospektiv angelegt mit zwei Gruppen und verblindeter Auswertung der primären Zielvariablen. Es werden 40 Patienten in jede prospektiv behandelte Gruppe eingeschlossen. Die Initiierung, Durchführung und Koordination dieser Studie erfolgt durch Herrn Prof. Dr. med. T. Hupp, Klinik für Gefäßchirurgie, Klinikum Stuttgart, Katharinenhospital. Herr Prof. Hupp fungiert in dieser Studie als Leiter der klinischen Prüfung (LKP). Der Nachbeobachtungszeitraum beträgt 30 Tage.

Zur Gewährleistung der Datenkonsistenz und zur Sicherstellung einer GCP-ICH Guidelines konformen Datenqualität wird durch einen zweiten Prüfarzt stichprobenartig eine „source data verification“ (SDV) durchgeführt. Bei einer SDV Fehlerquote von  $< 10\%$  wird die SDV bei 25 % der Patienten durchgeführt. Mit einer SDV Fehlerquote von  $\geq 10\%$  müssen alle Patienten überprüft werden.

## **3.3 Heparin**

### **3.3.1 Unfraktioniertes Heparin**

In dieser Studie wird handelsübliches unfraktioniertes Heparin aus Schweinedarmmukosa verwendet (Fa. Braun Melsungen AG, Melsungen, FRG.). Die Lösung enthält 10000 I.E./ml.

#### **3.3.1.1 Antagonisierung**

Im Falle einer lebensbedrohlichen Blutung kann die gerinnungshemmende Wirkung von UFH mit Protamin antagonisiert werden. Dabei neutralisiert 1 I.E. Protamin die Wirkung von 1 I.E. UFH. Unter Berücksichtigung der Halbwertszeit des UFH soll 90 Minuten nach i.v.-Gabe nur 50% und nach 3 Stunden 25% der errechneten Protaminmenge gegeben werden.

### **3.3.2 Dalteparin (Fragmin®)**

Dalteparin ist ein niedermolekulares Heparin mit einem durchschnittlichen Molekulargewicht von 4000 – 6000 Dalton, wobei sich ca. 90 % der Molekulargewichte in einem Bereich von 2000 – 9000 Dalton befinden. Es wird durch Depolymerisation unter Verwendung salpetriger Säure aus Schweinedarmmukosa gewonnen und anschließend einem Reinigungsverfahren unterworfen. Die spezifische antikoagulatorische Aktivität beträgt ca. 160 I.E. Anti-F-Xa/mg und ca. 40 I.E. Anti-F-IIa/mg. In dieser Studie soll handelsübliches Dalteparin in mit 10000 I.E. Anti-F-Xa/ml Lösung ( März 2002 Fa. Pharmacia GmbH, Erlangen, FRG.) verwendet werden.

#### **3.3.2.1 Antagonisierung**

Im Falle einer lebensbedrohlichen Blutung kann die gerinnungshemmende Wirkung von Dalteparin mit Protamin antagonisiert werden. Die Anti-F-Xa-Aktivität kann maximal zu 50-60% neutralisiert werden. Eine reine Faktor-Xa-Inhibierung besitzt jedoch ohne Wirkung auf aPTT und Thrombinzeit auch in höheren Dosierungen keine antithrombotische Aktivität oder blutungsfördernde Komponente (24). Bei einer intravenösen Bolusgabe von durchschnittlich 2.600 Anti-Xa-E erreichte die Arbeitsgruppe von Bratt eine initiale Anti-FXa-Aktivität von ca. 1,2 I.E./ml, die jedoch innerhalb von 2 Stunden auf ca. 0,6 I.E./ml abfiel (7). Somit dürfte in der ersten Stunde nach intravenöser Bolusgabe von ca. 2500 Anti-Xa-E Dalteparin unter Einbeziehung der zügig von ca. 1,0 I.E./ml auf ca. 0,7 I.E./ml abfallende Plasmaspiegel eine Erstdosis von ca. 3-4 ml Protamin® ICN 1000 (1 ml enthält 1000 I.E.) zur Antagonisierung ausreichen.

### 3.3.3 Medikamentöses Therapieschema

#### 3.3.3.1 Präoperative Medikation

Alle Patienten erhalten nach Einschluß in die Studie 100 IE/kg KG/Tag Anti-F-Xa Dalteparin s.c, max. 1 x 10.000 I.E. Anti-F-Xa/Tag. Die letzte Gabe erfolgt am Abend vor dem geplanten Eingriff.

#### 3.3.3.2 Intraoperative Heparin-gabe

Die intraoperative Heparin-gabe erfolgt ca. 5 Minuten vor dem Ausklemmen der Gefäße. Dabei erhalten die Patienten der UFH-Gruppe 3000 I.E UFH als Bolus. Die Patienten der Dalteparin-Gruppe werden in Abhängigkeit vom ihrem Körpergewicht in 4 Gruppen eingeteilt und erhalten folgende Dosierungen:

##### Frauen:

- Patienten  $\leq$  60 kg: 1.500 IE Fragmin i.v. Bolus.
- Patienten  $\leq$  80 kg: 2.000 IE Fragmin i.v. Bolus.
- Patienten  $\leq$  100 kg: 2.500 IE Fragmin i.v. Bolus.
- Patienten  $>$  100 kg: 3.000 IE Fragmin i.v. Bolus.

##### Männer:

- Patienten  $\leq$  50 kg: 1.500 IE Fragmin i.v. Bolus.
- Patienten  $\leq$  70 kg: 2.000 IE Fragmin i.v. Bolus.
- Patienten  $\leq$  90 kg: 2.500 IE Fragmin i.v. Bolus.
- Patienten  $>$  90kg: 3.000 IE Fragmin i.v. Bolus.

Nach UFH-Gabe erfolgt die Bestimmung der aktivierten Gerinnungszeit (activated clotting time [ACT]). Diese soll als zusätzlicher Parameter der antikoagulatorischen Wirkung von UFH mit der Anti-FXa-Aktivität und der Anti-



FIIa-Aktivität verglichen werden. PATY et al. (41) untersuchten in dem prospektiven Teil ihrer Studie die ACT-Werte von jeweils 10 Patienten, die intraoperativ entweder 30 I.E./kg UFH oder 60 I.E./kg UFH erhielten. Dabei konnte kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den ACT-Werten beider Gruppen gefunden werden bei gleichwertiger Sicherheit in Bezug auf thrombotische Komplikationen und postoperative Blutungen. Eine intraoperative Dosisanpassung fand nicht statt. Auf eine ACT-Messung gänzlich verzichtet wurde in den Untersuchungen von SAMAMA et al. (48) sowie von SWEDENBORG et al. (52). Eine Dosisanpassung von UFH ist daher nicht vorgesehen.

### **3.3.3.3 Postoperative Heparin-gabe**

Die Patienten erhalten 2 Stunden nach der intraoperativen Heparin-gabe und am Abend 2500 I.E. Dalteparin s.c., weiterhin an jedem Folgetag bis zur Entlassung aus der stationären Behandlung 2 x 2500 I.E. Dalteparin s.c.

## **3.4 Operation**

Alle Patienten werden durch erfahrene Gefäßchirurgen nach standardisierte Verfahren der Carotis-TEA unter Intubationsnarkose operiert.

Dabei werden folgende Operationstechniken angewendet:

1. Offene Carotis-TEA und Verschluss der ACI mit Patch.
2. Carotis-Eversions-TEA.

Während des Eingriffes erfolgt ein Monitoring der Hirndurchblutung und Hirnfunktion mit somatosensorisch evozierten Potentialen (SSEP). Bei einer kritischen Hirndurchblutung wird ein intraluminaler Shunt platziert. Die intraoperativ verwendete Spülflüssigkeit enthält kein UFH oder Dalteparin.

### **3.4.1 Postoperative Überwachung**

Die postoperative Überwachung erfolgt für die ersten 24 Stunden auf der operativen Intensivstation des Katharinenhospital Stuttgart (Leiter: Prof. Dr. C. Krier).

Insbesondere werden folgende Parameter überwacht:

1. Der Blutdruck soll 160 mmHg systolisch nicht überschreiten
2. Bewußtsein.
3. Motorische Funktion.
4. Sensible Funktion.
5. Nachblutung.
6. Sprache.
7. Feinmotorik.
8. Funktion des XII. und VII. Hirnnervs.

Bis zum 7. postoperativen Tag wird der Patient dann von speziell geschulten Krankenpflegepersonal auf einer gefäßchirurgischen Normalstation überwacht.

## **3.5 Laborkontrollen**

### **3.5.1 Routinelabor**

Vor Therapiebeginn werden Blutproben zur Bestimmung der folgenden Laborparameter entnommen: Hämoglobin, Hämatokrit, Erythrozytenzahl, Thrombozytenzahl, Leukozytenzahl, Quick, PTT, Fibrinogen, Serumelektrolyte, Serumkreatinin, Serumharnstoff, Serumtransaminasen, Serumcholesterin und Serumtriglyzeride, TSH, fT<sub>4</sub>, fT<sub>3</sub>, Blutzucker. Weitere Laborkontrollen erfolgen am 1. postoperativen Tag und am 5. Tag nach Therapiebeginn mit Dalteparin. Die Thrombozytenzahl wird dann alle drei Tage kontrolliert.

### **3.5.2 Anti-Xa-/IIa-Spiegel-Messung**

Die Kontrolle der Anti-Faktor-Xa-Aktivität und der Anti-Faktor-IIa-Aktivität erfolgt in beiden Gruppen.

Hierzu wird am Operationstag zu drei verschiedenen Zeitpunkten Blut entnommen:

1. vor der Operation.
2. ca. 5 Minuten nach i.v. Dalteparin-Gabe.
3. vor der nächsten Dalteparin-Gabe am OP-Tag.

Die Blutentnahme erfolgt über einen arteriellen Zugang mit kliniküblichen Zitrat tubes (3 ml). Dabei werden vor der Abnahme 5 ml Blut aus dem arteriellen Zugang verworfen. Die Blutproben werden maximal 30 Minuten bei +4 °C gelagert und dann in einer Zentrifuge bei 4000 Umdrehungen/min und +4 °C für 10 Minuten zentrifugiert. Das Zitratplasma wird dann bei –20°C gelagert und zur Bestimmung der Anti-Faktor-Xa-Aktivität und der Anti-Faktor-IIa-Aktivität an ein Speziallabor für Gerinnungsdiagnostik weitergegeben (Labor Dr. Arlt, Steinbeisstraße 9, 70825 Korntal - Berichrom®-Heparin-Test [bei Anti-Xa], Fa. Dade Behring Marburg GmbH, Marburg, FRG). Die Anti-Faktor-Xa-Aktivität soll zeitnah bestimmt werden.

## **3.6 Blutverlust/Hämatome**

### **3.6.1 Intraoperativer Blutverlust**

Die Bestimmung des intraoperativen Blutverlustes erfolgt durch Sammlung des Blutes in einem Saugbehälter. Der postoperative Blutverlust wird über die Messung der Blutmengen in der Redon-Saugdrainage bestimmt.

Postoperative Nachblutungen werden wie folgt beurteilt.

1. Keine Nachblutung.
2. Minimale Nachblutung – der Verband ist leicht durchgeschlagen.
3. Starke Nachblutung – der Verband ist erheblich durchgeschlagen.
4. Nachblutungen, die eine Revision oder Durchstechung erfordern.

Zudem werden Blutungen wie folgt eingeteilt

1. Eine schwerwiegende Blutungskomplikation ist definiert als jede Blutung, die zum Tode oder zur Unterbrechung der Behandlung führt, die eine Bluttransfusion erfordert oder einen Abfall im Hämoglobinspiegel von mehr als 2 g/dl mit sich bringt. Ferner alle intraokularen, intrakraniellen und / oder retroperitonealen Blutungen.
2. Eine kleine Blutungskomplikation ist definiert als jede offene Blutung, die nicht die Definition der o.a. Kriterien erfüllt. Kleinere Hämatome (kleiner als 2 cm Durchmesser) oder andere lokale Reaktionen an der Injektionsstelle werden nicht als kleinere Blutungskomplikationen betrachtet. Größere Hämatome (größer als 2 cm Durchmesser) oder andere lokale Reaktionen an der Injektionsstelle, die eine klinische Bedeutung haben, werden hingegen als Nebenwirkung betrachtet.

### **3.6.2 Hämatome**

Postoperative Hämatome werden wie folgt vom Prüfarzt beurteilt:

1. Kein Hämatom
2. Hämatom - jedoch keine Revision erforderlich
3. Hämatom – Revision erforderlich.

Für eine spätere unabhängige Beurteilung wird jede Operationswunde photodokumentiert.

### **3.7 Nachweis von Komplikationen**

#### **3.7.1 Nachweis einer arteriellen Thrombose der ACI**

Bei Verdacht auf eine arterielle Thrombose (z.B. Hemiparesen, Bewußtseinseintrübung) erfolgt die Untersuchung der ACI mittels farbkodierter Dopplersonographie (SONOLINE ELEGRA, Siemens, Erlangen, FRG).

Bei asymptomatischen Patienten erfolgt die Kontrolle der ACI einen Tag vor Entlassung aus der stationären Behandlung.

#### **3.7.2 Nachweis eines ischämischen Hirninfarkts**

Bei Verdacht auf einen apoplektischen Insult/Hirnblutung erfolgt die sofortige Untersuchung des Cerebrums mittels CCT.

#### **3.7.3 Nachweis der Todesursache**

Verstirbt ein/e Patient/in während der Studie, sollte eine Autopsie angestrebt werden und nach einer thromboembolischen Komplikation gesucht werden. Falls eine Lungenembolie nachgewiesen wird, wird diese als thromboembolische Komplikation bewertet.

### 3.8 Ablaufplan der Studie (Flow chart)

Tabelle 2: Ablaufplan der Studie

	Bei Aufnahme	Am 1. post-Op Tag	Bei Klinikentlassung	Bei Bedarf
<b>Anamnese und klinische Untersuchung</b>	X			X
<b>Duplexsonographie der hirnversorgenden Gefäße</b>	liegt prä-öp bereits vor		X	X
<b>Röntgen-Thorax</b>	X			X
<b>EKG</b>	X			X
<b>CCT (alle Stadien)</b>	falls nicht vorhanden			X
<b>PTT</b>	X	X		X
<b>Quick (INR-Wert)</b>	X	X	X	X
<b>BB</b>	X	X	X	X
<b>Aufnahmelabor (s.o.)</b>	X			
<b>Thrombophiliediagnostik</b>				X
<b>Thrombozytenkontrolle.<sup>1</sup></b>	X	X	X	X

<sup>1</sup> Solange Dalteparin appliziert wird zweimal wöchentlich. Bei Abfall der Thrombozyten unter 100 000/µl oder unter 50% des Ausgangswertes erfolgt ein HIPA-Test.

### 3.9 Unerwünschte Ereignisse

Als unerwünschtes Ereignis wird jedes während der Heparinanwendung auftretende Ereignis bezeichnet, das sich auf den Zustand der Patienten oder die Laborparameter auswirkt und nachteilige Wirkung auf die Gesundheit und/oder das Wohlbefinden der Patienten hat oder haben kann; unabhängig davon, ob ein Zusammenhang zwischen der Gabe der Prüfsubstanz und dem Ereignis besteht oder nicht. Alle unerwünschten Ereignisse sollen während der gesamten Beobachtungszeit verfolgt und im Dokumentationsbogen unter Angabe von Art, Dauer, Schweregrad und Intensität, möglicher Ursache sowie von Beurteilung des Kausalzusammenhanges, Maßnahmen (bzgl. Heparin) und Ausgang dokumentiert werden. Als schwerwiegendes unerwünschtes Ereignis sind (auszugsweise gemäß FDA) alle Ereignisse einzustufen, die

- tödlich sind,
- lebensbedrohlich sind,
- die Verlängerung des stationären Aufenthaltes bzw. eine stationäre Behandlung bedingen,
- Schäden oder Behinderungen hervorrufen,
- einer ärztlichen Behandlung bedürfen, um bleibende Beeinträchtigungen / Schäden zu verhindern,

Schwerwiegende unerwünschte Arzneimittelwirkungen müssen von den Prüffärzten innerhalb eines Arbeitstages nach Bekanntwerden und ungeachtet der Zeit, die zwischen Auftreten des Ereignisses und dem Zeitpunkt der Kenntnisnahme verstrichen ist, an den Hersteller der Prüfsubstanz berichtet werden. Dies gilt auch dann, wenn das Ereignis nach der Heparinanwendung bekannt wird. Es besteht die Verpflichtung, die Ethikkommission über schwerwiegende unerwünschte Ereignisse zu informieren. Sobald nähere Informationen zum Verlauf, Begleiterkrankungen und -medikation sowie Beurteilung der Kausalität erhältlich sind, muß ein Folgebericht erstellt werden.

Es muß ebenfalls festgehalten werden, ob Dalteparin abgesetzt, reduziert oder weitergegeben wurde und welche andere Maßnahmen ergriffen wurden.

### **3.9.1 Abbruch der Studie**

Ein(e) Patient(in) soll von der weiteren Teilnahme an der Studie ausgeschlossen werden,

- wenn es aus medizinischer Sicht erforderlich ist.
- auf Wunsch der Patienten (ungeachtet der Gründe).
- falls erforderlich bei einem schwerwiegenden unerwünschten Ereignis.

Die Gründe für den Ausschluß eines/einer Patienten/Patientin müssen im Dokumentationsbogen klar beschrieben und die Patienten sollten, wenn immer möglich, unabhängig vom Ausschlußgrund sobald wie möglich untersucht werden.

Die Studie ist abubrechen, wenn Sicherheitsbedenken auftreten.

## **3.10 Statistik**

### **3.10.1 Fallzahlbestimmung**

Zur Fallzahlschätzung wurden die Daten von insgesamt 8 Patienten ausgewertet, die bis April 2001 bei gefäßchirurgischen Eingriffen an der unteren Extremität als Einzeltherapieversuch intraoperativ Dalteparin i.v. erhielten. Dabei entsprach die Dosis in etwa der Dosis, die in diesem Prüfplan vorgesehen ist (Mittelwert 27,3 I.E. Anti-FXa-Aktivität). Unter Dalteparin hatte die Anti-Faktor-Xa-Aktivität einen Mittelwert von 0,785, eine



Standardabweichung von 0,205 und einen Median von 0,83. Die z-Transformierte nach BROWN-FORSYTHE lag im Mittel bei  $0,1475 \pm 0,1394$ .

Unter der Annahme, daß die Variabilität unter UFH doppelt so hoch ist wie unter Dalteparin, wird für die Anti-Faktor-Xa-Aktivität eine Standardabweichung von 0,410 angenommen, d.h. der Schätzer für die Variabilität (z-Transformierte nach BROWN-FORSYTHE ) wird bei  $0,2950 \pm 0,2788$  angenommen.

Unter den oben genannten Annahmen werden für den Varianzhomogenitätstest nach - BROWN-FORSYTHE 37 auswertbare Patienten pro Behandlungsgruppe benötigt, um die zweiseitige Unterschiedsfragestellung auf einem  $\alpha$ -Niveau von 5% mit einer Power von 80% zu beantworten.

Unter Berücksichtigung einer 5%- Drop-out Rate sollten 80 (40 pro Behandlungsgruppe) Patienten eingeschlossen werden.

Die Fallzahlbestimmung wurde mittels der Software N von IDV (München) durchgeführt.

### **3.10.2 Vorbereitung der Analyse**

Voraussetzung für die Datenanalyse ist das vollständige Ausfüllen des CRFs. Die im CRF dokumentierten Daten werden mit einem elektronischen Datenbanksystem erfasst. Die Daten werden entsprechend einem zu verabschiedenden Validierungsplan auf Plausibilität geprüft. Nicht plausible oder fehlende Daten werden durch den Prüfarzt verifiziert und nachträglich in die Datenbank aufgenommen.

Datenmanagement, incl. Bestimmung des Validitätsstatus, wird im verblindeten Zustand durchgeführt.

### 3.10.3 Hintergrundinformationen und Auswertung der Basisparameter

Kontinuierliche demographische oder anamnestische Daten werden durch Mittelwert, Standardabweichung, Minimum, 25% Perzentil, Median, 75% Perzentil und Maximum beschrieben. Kategorielle Daten werden durch Häufigkeitstabellen dargestellt.

Die Vergleichbarkeit der Behandlungsgruppen wird im Hinblick auf relevante demographische und anamnestische Daten überprüft. Gegebenenfalls werden Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen auf ihre Auswirkung auf den Behandlungseffekt hin explorativ überprüft.

### 3.10.4 Wirksamkeitsauswertung

#### Hauptzielvariable

Das Ziel dieser Studie ist es, einen Unterschied in der Variabilität der Anti-Faktor-Xa-Aktivität unter Dalteparin im Vergleich zu UFH zu zeigen. Der Test auf Unterschied in der Variabilität von Dalteparin und UFH soll mit dem Test zur Varianzhomogenität nach BROWN-FORSYTHE (zweiseitig,  $\alpha=5\%$ ) durchgeführt werden.

Die konfirmatorische Analyse wird für das ITT-Kollektiv durchgeführt. Eine weitere explorative Analyse wird für das PP-Kollektiv durchgeführt.

#### Sekundäre Zielparameter

Die Nebenzielvariablen werden lediglich für das ITT Kollektiv analysiert, die Analyse ist deskriptiv.

Die Inzidenzen von thromboembolischen Ereignissen in der endarterektomierten A.carotis interna nach Carotis-TEA, von neurologischen Ausfällen nach Carotis-TEA, und von Blutungskomplikationen werden anhand Fisher's exaktem Test durchgeführt. Häufigkeiten und Schweregrad werden mit Häufigkeitstabellen dargestellt.

### **3.10.5 Sicherheitsauswertung**

Für die sicherheitsrelevanten Variablen (d.h. Häufigkeiten von unerwünschten Ereignissen, Häufigkeiten von Laborwerten außerhalb des Normwertbereichs, Studienabbruchraten und Begleitmedikationsraten) werden zusammenfassende Statistiken erstellt.

## **4. Ethische Anforderungen**

Diese Studie wird nach GCP und ICH-Guidelines und der Deklaration von Helsinki durchgeführt.

## 5. Ergebnisse

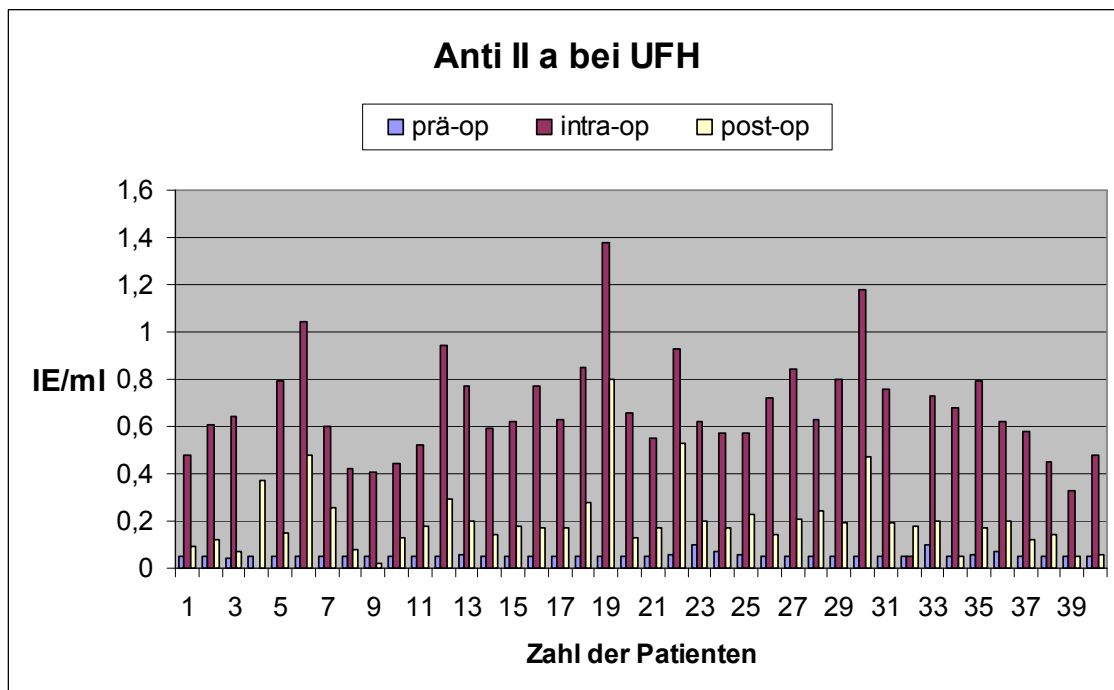


Abbildung 1: Anti-IIa-Aktivität nach prä/intra/postoperativer Gabe von UFH

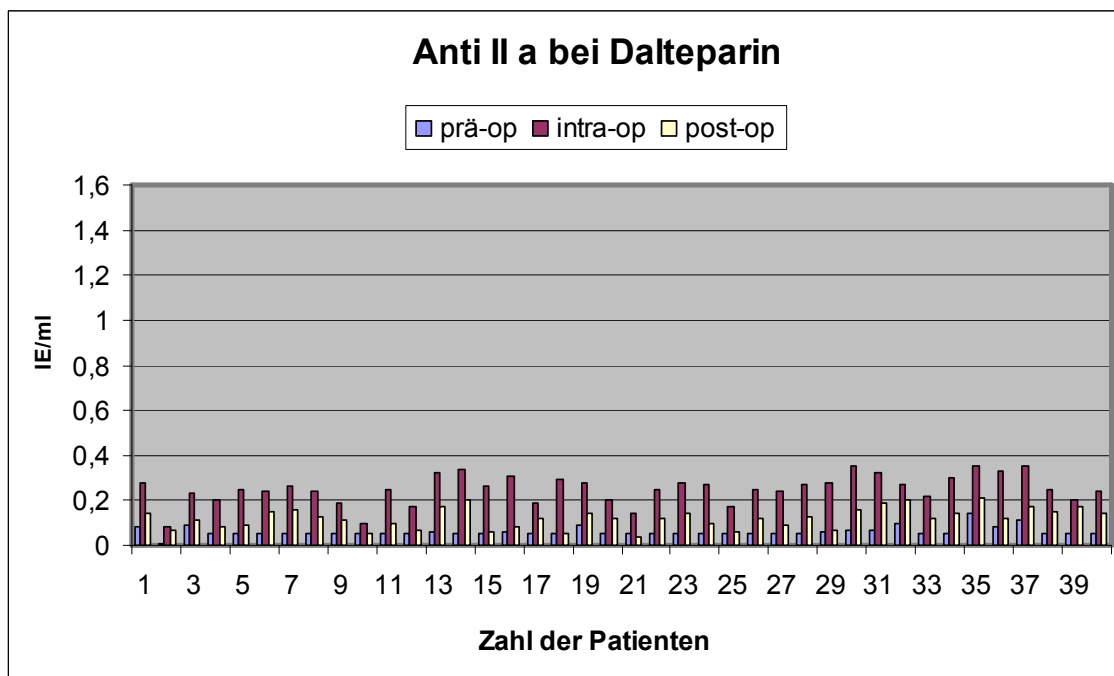


Abbildung 2: Anti-IIa-Aktivität nach prä/intra/postoperativer Gabe von Dalteparin

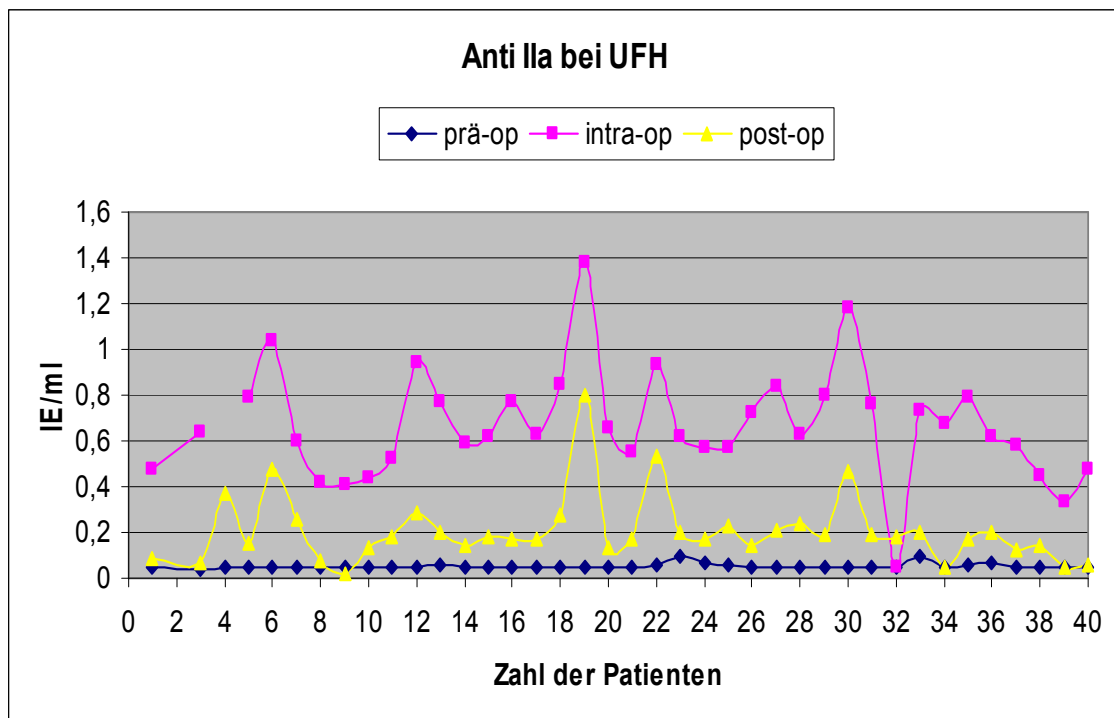


Abbildung 3: Anti-IIa-Aktivität nach prä/intra/postoperativer Gabe von UFH

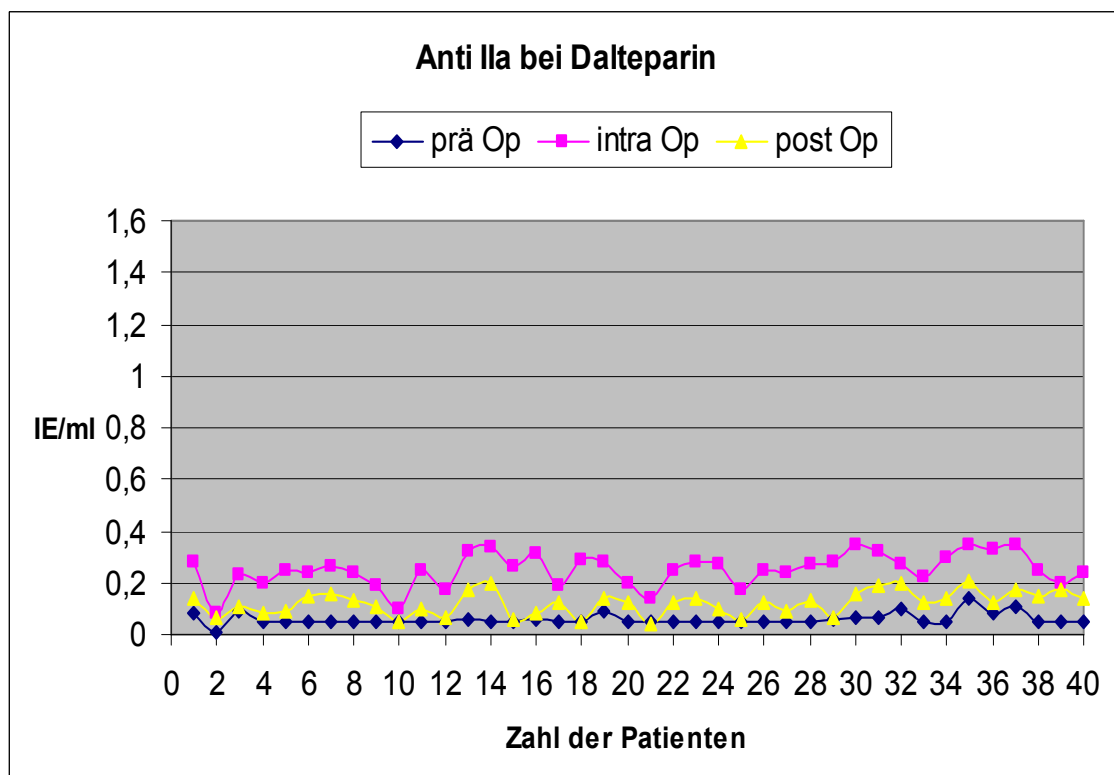


Abbildung 4: -IIa-Aktivität nach prä/intra/postoperativer Gabe von Dalteparin

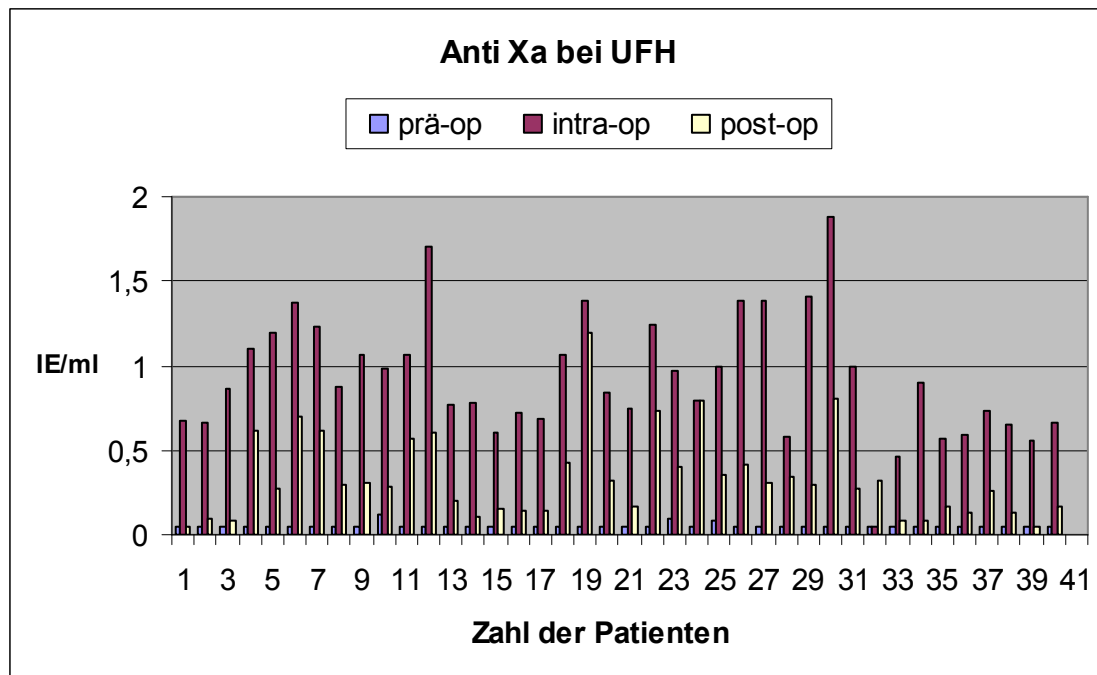


Abbildung 5: Anti- Xa-Aktivität nach prä/intra/postoperativer Gabe von UFH

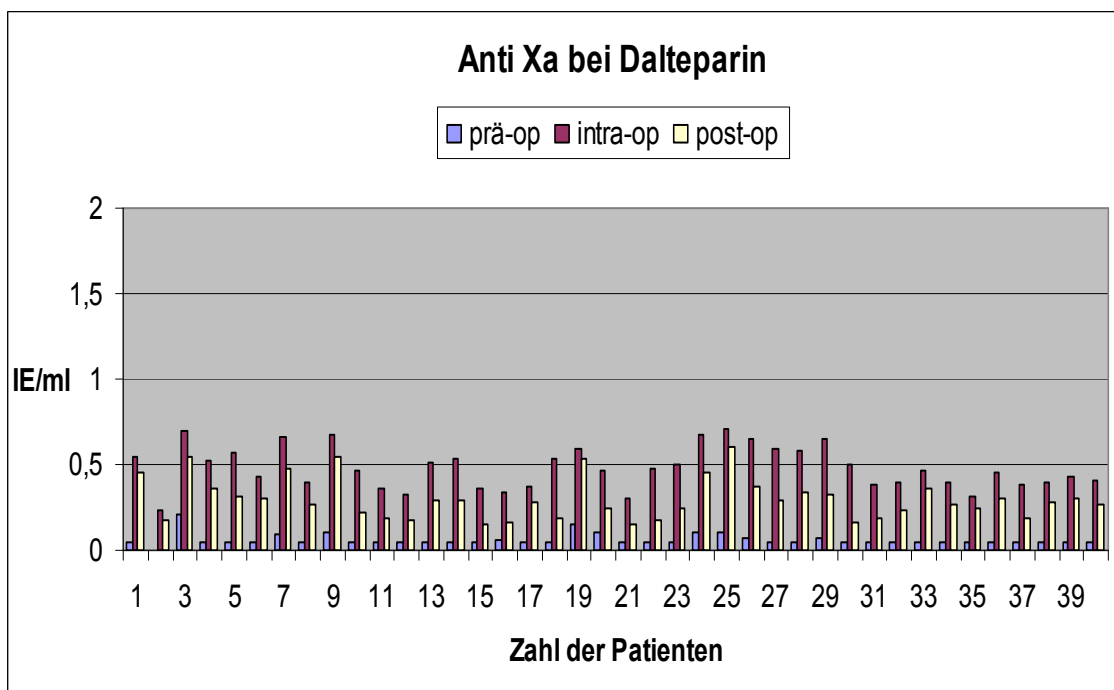


Abbildung 6: Anti-Xa-Aktivität nach prä/intra/postoperativer Gabe von Dalteparin

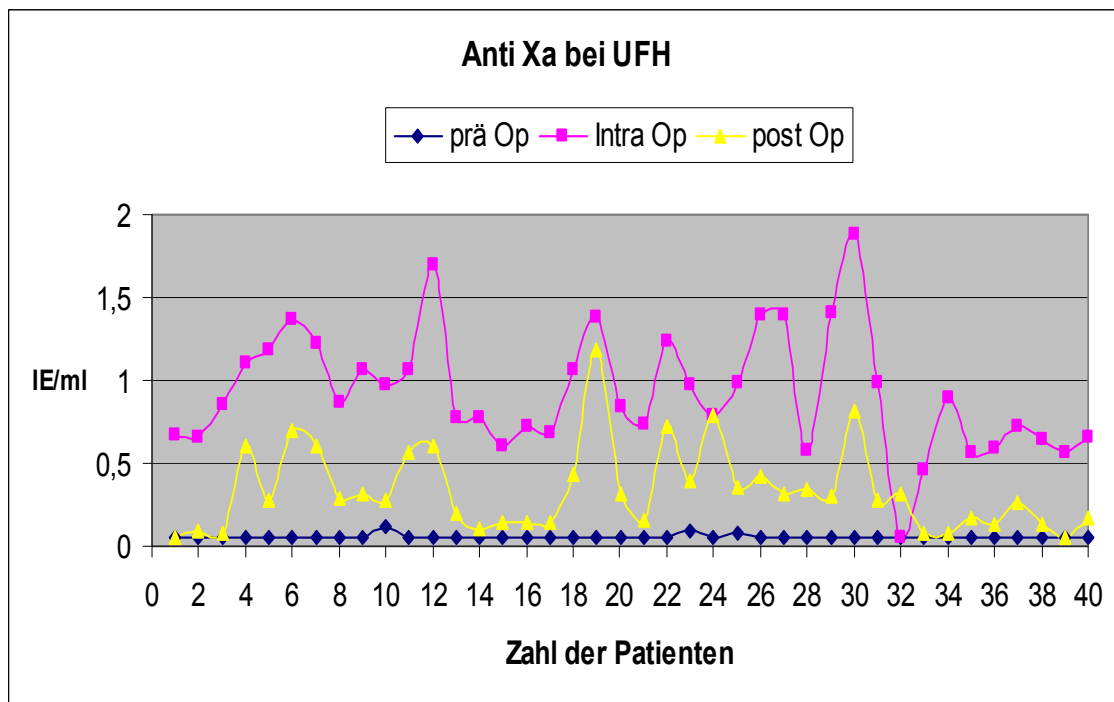


Abbildung 7: Anti-Xa-Aktivität nach prä/intra/postoperativer Gabe von UFH

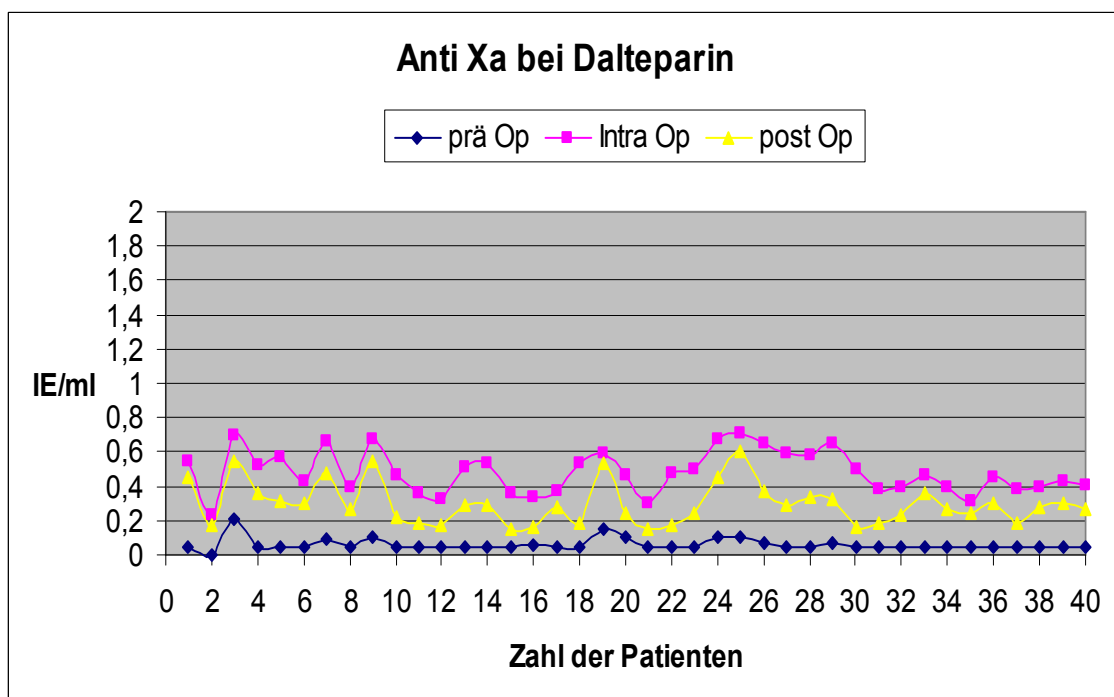


Abbildung 8: Anti-Xa-Aktivität nach prä/intra/postoperativer Gabe von Dalteparin

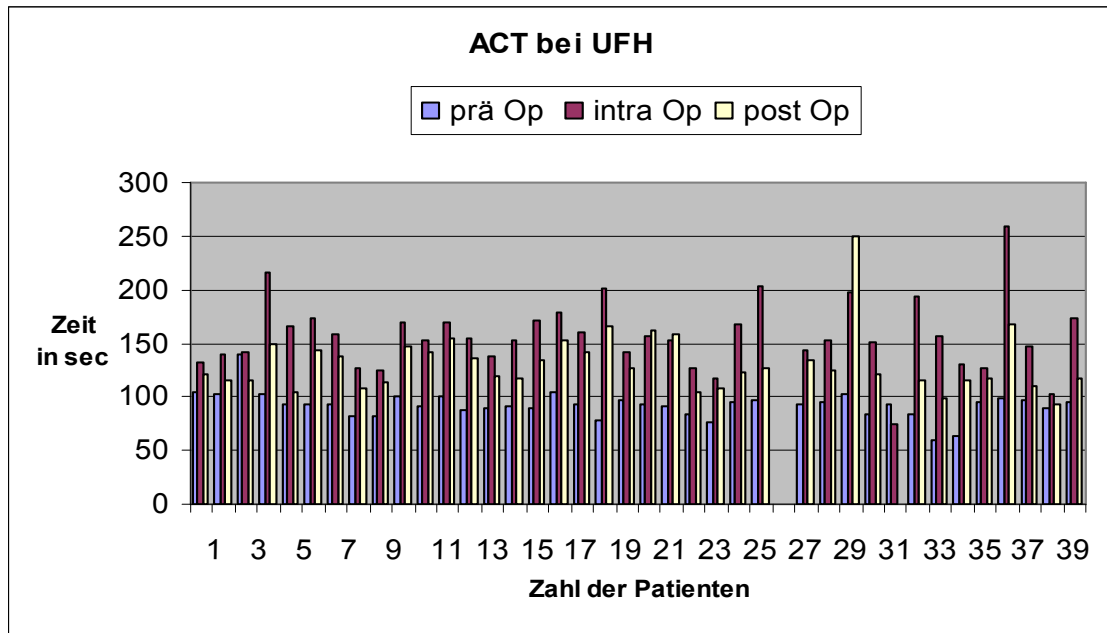


Abbildung 9: ACT (Activated Clotting Time) nach prä/intra/postoperativer Gabe von UFH

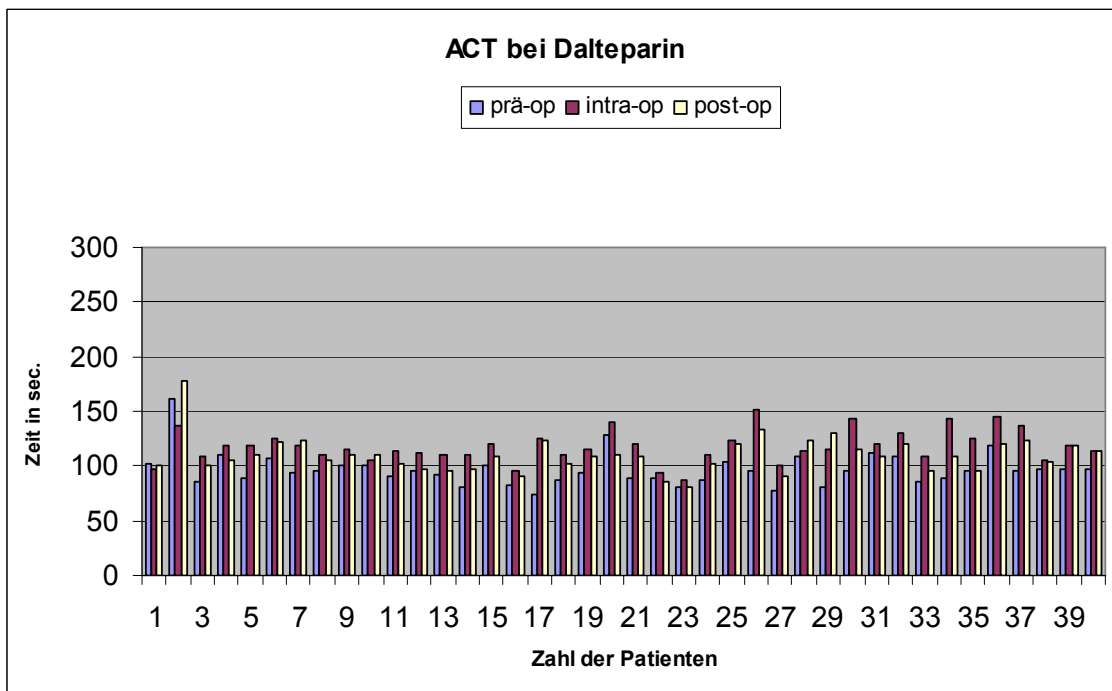
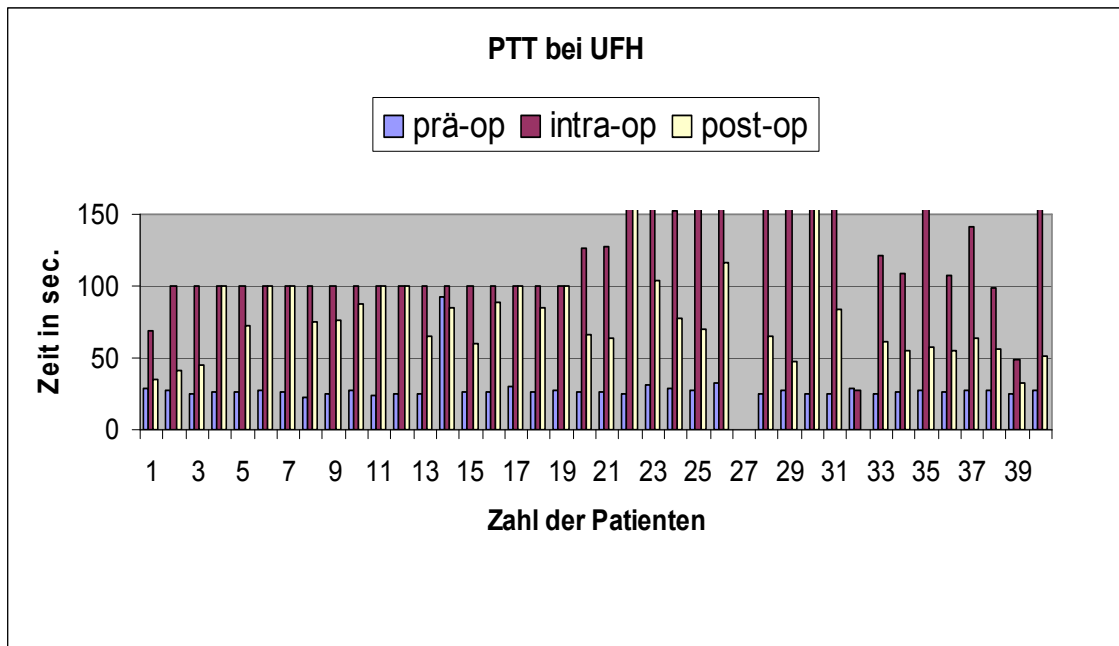
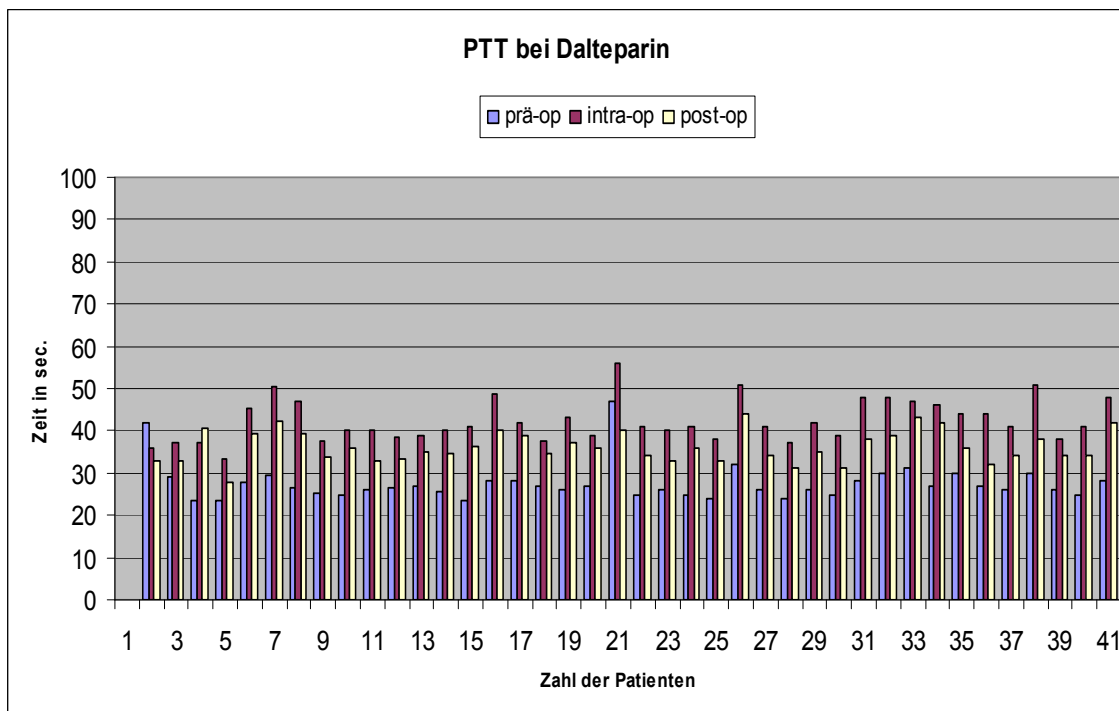


Abbildung 10: ACT (Activated Clotting Time) nach prä/intra/postoperativer Gabe von Dalteparin





**Abbildung 11: PTT nach prä/intra/postoperativer Gabe von UFH**



**Abbildung 12: PTT nach prä/intra/postoperativer Gabe von Dalteparin**

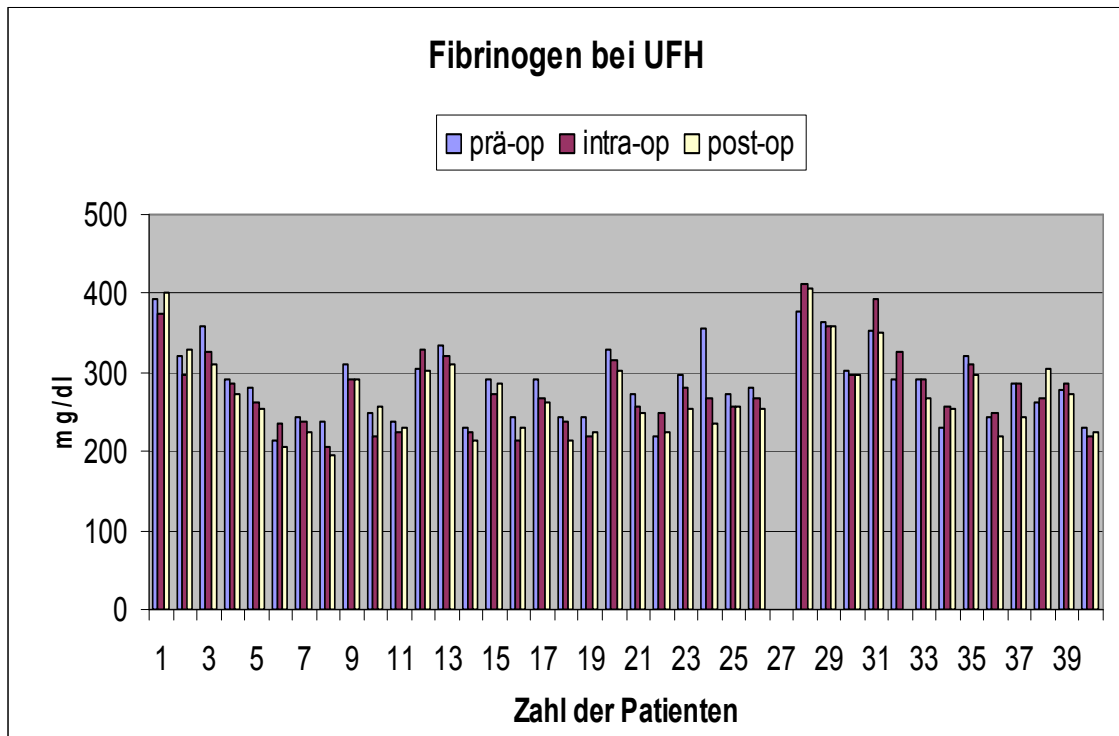


Abbildung 13: Fibrinogen nach prä/intra/postoperativer Gabe von UFH

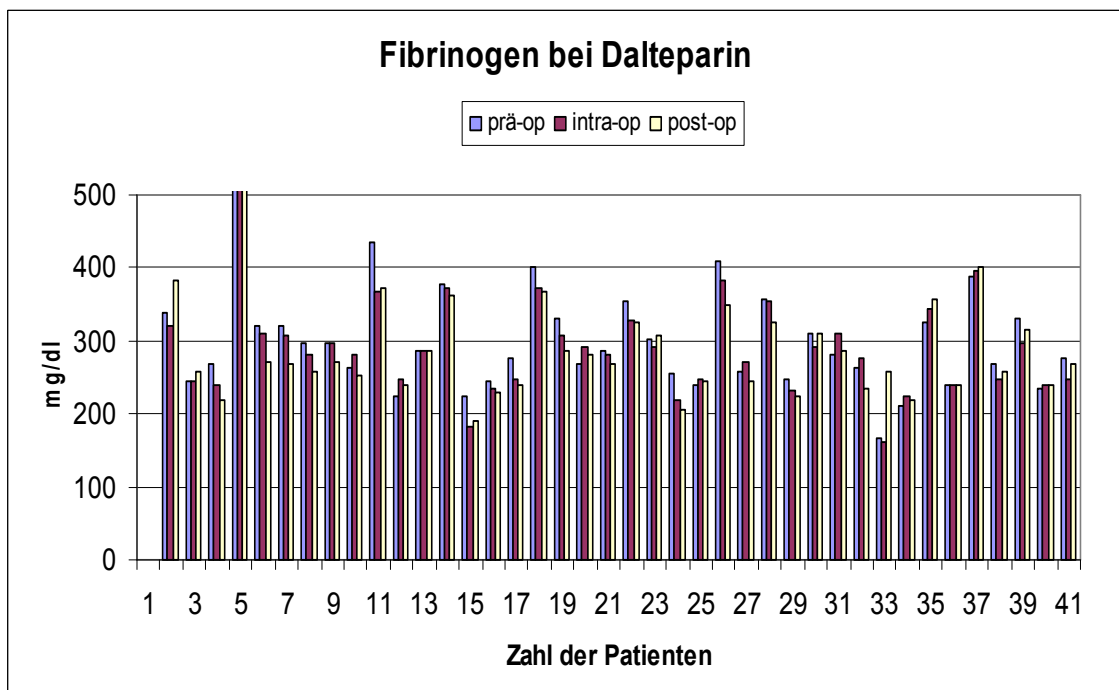


Abbildung 14: Fibrinogen nach prä/intra/postoperativer Gabe von Dalteparin

Tabelle 3: Patientendaten und klinische Befunde

	<b>UFH-Gruppe</b>	<b>Dalteparingruppe</b>
<b>Frauen</b>	14	10
<b>Männer</b>	26	30
<b>Durchschnittsalter</b>	67,8	68,3
<b>Hypertonie</b>	29	31
<b>Nikotin</b>	5	5
<b>FSS</b>	31	27
<b>Diabetes mellitus</b>	7	11
<b>Carotisstenose Stadium I</b>	25	26
<b>Ila</b>	5	6
<b>Ilb</b>	8	5
<b>IV</b>	2	3
<b>Thromboembolische Ereignisse</b>	1(2,5%)	0
<b>Blutverlust intra und postoperativ mit einem Hb-Abfall &gt; 2 Punkte</b>	12 (30%)	6 (5%)
<b>HIT Typ II</b>	1 (2,5%)	0

Tabelle 4: Deskriptive Statistik zu Anti-Faktor-IIa-Aktivität

	<b>UFH-Gruppe N=40</b>	<b>Daltparin- Gruppe N= 40</b>	<b>Total N= 80</b>
<b>präoperativ</b>			
Mittelwert	0.054	0.059	0.057
Standardabweichung	0.012	0.022	0.018
Minimum	0.040	0.010	0.010
25% quantile	0.050	0.050	0.050
Median	0.050	0.050	0.050
75% quantile	0.050	0.060	0.055
Maximum	0.100	0.140	0.140
<b>intraoperativ</b>			
Mittelwert	0.673	0.250	0.462
Standardabweichung	0.233	0.064	0.272
Minimum	0.050	0.080	0.050
25% quantile	0.560	0.210	0.250
Median	0.630	0.250	0.350
75% quantile	0.790	0.285	0.630
Maximum	1.380	0.350	1.380
<b>postoperativ</b>			
Mittelwert	0.206	0.121	0.163
Standardabweichung	0.148	0.045	0.116
Minimum	0.020	0.040	0.020
25% quantile	0.130	0.085	0.100
Median	0.175	0.120	0.140
75% quantile	0.220	0.150	0.190
Maximum	0.80	0.210	0.800

Tabelle 5: Deskriptive Statistik zu Anti-Faktor-Xa-Aktivität

	<b>UFH-Gruppe N=40</b>	<b>Dalteparin- Gruppe N= 40</b>	<b>Total N= 80</b>
<b>präoperativ</b>			
Mittelwert	0.054	0.063	0.058
Standardabweichung	0.013	0.035	0.027
Minimum	0.050	0.000	0.000
25% quantile	0.050	0.050	0.050
Median	0.050	0.050	0.050
75% quantile	0.050	0.055	0.050
Maximum	0.120	0.210	0.210
<b>intraoperativ</b>			
Mittelwert	0.929	0.481	0.705
Standardabweichung	0.360	0.123	0.350
Minimum	0.050	0.230	0.050
25% quantile	0.665	0.385	0.460
Median	0.865	0.470	0.625
75% quantile	1.145	0.575	0.865
Maximum	1.880	0.710	1.880
<b>postoperativ</b>			
Mittelwert	0.334	0.298	0.316
Standardabweichung	0.255	0.122	0.200
Minimum	0.050	0.150	0.050
25% quantile	0.140	0.190	0.170
Median	0.275	0.280	0.280
75% quantile	0.425	0.350	0.365
Maximum	1.190	0.610	1.190

## Anti-Faktor-IIa-Aktivität und Anti-Faktor-Xa-Aktivität: Brown\*-Forsythe Test

Tabelle 6: Brown-Forsythe Test

		Differenz ( Gruppe 1- Gruppe 2 ) der absoluten Abweichungen vom Median			
		p-Wert*	Mittelwert	95%-Konfidenzintervall	
<b>Anti-Faktor-IIa-Aktivität</b>	<b>prä-Op</b>	0.0891	- 0.00650	- 0.0140	0.00102
	<b>Intra-Op</b>	<.0001	0.11825	0.06391	0.17259
	<b>Post-Op</b>	0.0085	0.05300	0.01390	0.09210
<hr/>					
<b>Anti-Faktor-Xa-Aktivität</b>	<b>prä-Op</b>	0.0351	- 0.01225	- 0.02362	-0.00088
	<b>Intra-Op</b>	<.0001	0.17900	0.10315	0.25485
	<b>Post-Op</b>	0.0040	0.09475	0.03115	0.15835

\* Brown-Forsythe Test for Homogeneity of resid Variance, ANOVA of Absolute Deviations from Group Medians.

80 Patienten wurden in die Studie aufgenommen. Es handelte sich um 24 Frauen und 56 Männer. Der Altersdurchschnitt der Gesamtpopulation lag in der UFH-Gruppe bei 67,8 Jahren und in der Dalteparingruppe bei 68,3 Jahren.

Alle untersuchten Parameter sind in den Abbildungen und in den Tabellen dargestellt.

- In der UFH Gruppe wurde bei einem (2,5%) Patienten intraoperativ thromboembolische Komplikationen festgestellt. Dieser Patient musste wegen intraoperativ wiederholter Thrombenbildung revidiert werden.
- Eine Heparin- induzierte Thrombozytopenie Typ II wurde bei einem Patienten (2,5%) in der UFH Gruppe nachgewiesen. In der Dalteparin Gruppe konnte eine HIT-Typ II bei keinem der Patienten nachgewiesen werden.
- In der UFH Gruppe kam es zu bei 12 (30%) Patienten zu einem relevanten Blutverlust mit einem Hb-Abfall von mehr als 2 Punkten. In der Dalteparingruppe zeigte sich bei 6 (15%) der Patienten ein Blutverlust mit einem Hb-Abfall von mehr als 2 Punkten. Hier konnte ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen festgestellt werden.
- Der ACT (Activated Clotting Time) also die Zeit der aktivierten Gerinnung zeigt in beiden Gruppen deutliche Unterschiede. In der UFH Gruppe ist der ACT im Vergleich zu Dalteparingruppe deutlich verlängert. Bei normaler Heparinisierung ist der 1,5 – 2 fache Wert der Basis ACT anzustreben. Dieser Wert wurde, wie in den Abbildung 9 und Abbildung 10 dargestellt ist, in der UFH Gruppe im Gegensatz zu Dalteparingruppe mehrmals überschritten.
- Die Unterschiede der PTT (Partial Thromboplastin Time) beider Studiengruppen konnten als hoch-signifikant nachgewiesen werden. In der UFH Gruppe konnte bei 38 (95%) Patienten intraoperative Werte von deutlich höher als 100 sec. nachgewiesen werden. Bei 11 Patienten wurden

sogar Werte von über 1000 sec. gemessen. In der Dalteparin Gruppe zeigten sich PTT- Werte zwischen 35 sec. und 55 sec.

- Die Anti-Faktor- IIa- Aktivität ergab in der UFH Gruppe intraoperative Werte im Bereich zwischen 0,33 I.E./ml und 1,38 I.E./ml sowie ein Mittelwert von 0,673 I.E./ml und in der Dalteparin Gruppe Werte im Bereich zwischen 0,1 I.E./ml und 0,35 I.E./ml und ein Mittelwert von 0,250 I.E./ml.
- Die Anti-Faktor-Xa-Aktivität ergab in der UFH Gruppe intraoperative Werte im Bereich zwischen 0,46 I.E./ml und 1.88 I.E./ml sowie ein Mittelwert von 0.929 I.E./ml. Die intraoperativen Werte in der Dalteparin Gruppe lagen im Bereich zwischen 0,23 I.E./ml und 0,71 I.E./ml der Mittelwert lag bei 0,481 I.E./ml.

Der primäre Zielparameter, die Variabilität der Anti-Faktor-Xa-Aktivität, ist in der Dalteparin Gruppe signifikant ( $p < 0.0001$ ) kleiner als in der UFH Gruppe.

Ein ähnliches Ergebnis zeigt auch der sekundäre Zielparameter Anti-Faktor-IIa. Postoperativ ist für beide Parameter die Variabilität der Dalteparin Gruppe auch noch unterschiedlich, der Unterschied ist aber kleiner als intraoperativ.



## 6. Diskussion

In der vorgestellten Studie wurde erstmals die intravenöse Applikation von Dalteparin ( Fragmin ) im Vergleich zu unfraktioniertem Heparin ( UFH ) in der rekonstruktiven Carotis-Chirurgie in großen und statistisch aussagekräftigen Populationen gegeneinander getestet.

Das gewählte Studiendesign und die homogene Struktur der zwei Studiengruppen bezüglich der durchgeführten Operationen, des Alters und der prädisponierenden Risiken erlauben valide Aussagen zur Wirkung und Effizienz der getesteten Substanzen bei gefäßchirurgischen Patienten.

In der UFH Gruppe wurde eine Variabilität der Anti- Faktor Xa- Aktivität von 70 % und der Anti- Faktor IIa- Aktivität von 76 % nachgewiesen. In der NMH- Gruppe mit Applikation von Dalteparin zeigte sich eine signifikant geringere Variabilität der Anti- Faktor-Xa- Aktivität von 39 % und der Anti-Faktor-IIa- Aktivität von 51 %.

Um die Variabilität zwischen den Behandlungsgruppen zu vergleichen wurde der Brown-Forsythe Test durchgeführt. " Primary Endpoint " der Studie war der intraoperative Wert von Anti-Faktor-Xa.

Hier zeigt sich , dass die Variabilität der Dalteparingruppe signifikant (  $p < 0.0001$ ) kleiner ist als die der UFH-Gruppe. Eine geringe interindividuelle Variabilität führt zu einer vorhersehbaren antikoagulatorischen Wirkung bei verschiedenen Dosierungen – ein Monitoring ist daher nicht notwendig.

Die Sicherheit der periprozeduralen Blutverdünnung bei der, für thromboembolische Ereignisse so sensiblen und bei Eintreten so fatalen Carotirevascularisation ist durch die intravenöse Gabe von gewichtsadaptiertem niedermolekularem Heparin gegeben.

Thromboembolische Ereignisse konnten in beiden Gruppen nicht nachgewiesen werden. Nur in der UFH-Gruppe ist es bei einem sogenannten "non responder",

bei dem es praktisch zu einer totalen Eiweißbindung des UFH gekommen ist und somit zu keinerlei Blutverdünnung, zu einer lokalen Thrombusbildung im frisch thrombendarteriektomierten Gefäß gekommen. Dies konnte auch durch intraoperative ACT- Messungen bestätigt werden, welche keinerlei Änderung der ACT ( Activated Clotting Time ) nach intraoperativer UFH-Gabe zeigte. Glücklicherweise ohne thromboembolisches Ereignis und durch die sofortige operative Revision korrigierbar.

In der UFH Gruppe kam es bei 12 ( 30%) Patienten zu einem relevanten Blutverlust mit einem Hb-Abfall von mehr als 2 Punkten. In der Dalteparingruppe zeigte sich bei 6 ( 15% ) Patienten ein Blutverlust mit einem Hb-Abfall von mehr als 2 Punkten.

Eine Heparin- induzierte Thrombozytopenie Typ II wurde bei einem Patienten (2,5%) in der UFH Gruppe nachgewiesen. In der Dalteparingruppe konnte eine HIT-Typ II bei keinem der Patienten nachgewiesen werden. Das bestätigt Studien, die ein diesbezüglich geringeres Risiko der niedermolekularen Heparine gegenüber UFH darlegen. (WARKENTIN 1997, GANZER 1999). Die Inzidenz der HIT II wird in einer Literaturübersicht von EDER et al. (14) mit 0,5 - 5 % angegeben.

Das Wirkprofil wird insbesondere durch die Anti- Faktor-Xa Aktivität und Anti-Faktor-IIa-Aktivität bestimmt. Bei niedermolekularen Heparinen ist die Hemmung des Faktors Xa stärker ausgeprägt als die des Faktors IIa (Verhältnis 2:1 - 4:1), bei unfraktionierten Heparinen werden beide Faktoren gleichermaßen gehemmt. (SCHWEITZER 1997, BARROWCLIFFE 1995).

Aus dem Zusammenhang zwischen Kettenlänge und Hemmung des Faktor IIa (= Thrombin) bzw. Xa geht hervor, dass der Quotient Anti-Faktor Xa / Anti-Faktor IIa zunimmt je höher der Anteil der Moleküle ist, die eine Kettenlänge zwischen 8 und 16 Monosacchariden aufweisen (ANDERSSON 1995).

Die Dosierung von Dalteparin richtet sich nach der Anti-Faktor-Xa-Aktivität. In einer Untersuchung von SCHRADER bei der intravenösen Anwendung von Dalteparin im Rahmen der Hämodialyse konnte mit einer um 1/3 reduzierten NMH-Dosis im Vergleich zur UFH-Dosis eine Anti-Faktor-Xa-Aktivität zwischen 0,6 I.E./ml und 0,75 I.E./ml erzielt werden (48). BRATT et al. untersuchten die Anti-Faktor-Xa-Aktivität nach der intravenösen Gabe eines Bolus von 40 I.E. Anti-Faktor-Xa/kgKG Dalteparin und konnten hiermit eine initiale von Anti-Faktor-Xa-Aktivität von ca. 1,2 I.E./ml erreichen. Die Anti-Faktor-Xa-Aktivität blieb ca. zwei Stunden im therapeutischen Bereich (7).

Auf Grundlage der von BRATT et al. (7) gemessenen Anti-Faktor-Xa-Aktivität nach intravenöser Applikation von Dalteparin werden nach einer Dosierung von 27 I.E./ml Dalteparin/kgKG therapeutische Anti-Faktor-Xa-Aktivitäten von 0,5 I.E./ml bis 1,0 I.E./ml erwartet. In dieser Studie konnte durch Gabe von 27 I.E./ml Dalteparin/kgKG der zu erwartete therapeutische Bereich von Anti-Faktor-Xa-Aktivität von 0,5 I.E./ml bis 1,0 I.E./ml wie die Abbildung 8 zeigt nicht nachgewiesen werden.

Unsere Werte der Anti-Faktor-Xa-Aktivität lagen im Bereich zwischen 0,23 I.E./ml bis 0,71 I.E./ml und einem Mittelwert von 0,48 I.E./ml. Damit konnten wir den zu erwarteten therapeutischen Bereich von 0,5 I.E./ml bis 1,0 I.E./ml nicht erreichen.

Die Festlegung des therapeutischen Bereiches von 0,5-1,0 I.E./ml geht aus früheren Arbeiten hervor und beinhaltet als Empfehlung einen erheblichen Sicherheitsbereich. Bei einem Mittelwert von 0,48 I.E./ml für die Anti-Faktor-Xa-Aktivität in unserem NMH-Kollektiv, erreicht durch die Gabe von 27 I.E./ml Dalteparin/kgKG, ist es zu keinem thromboembolischen Ereignis gekommen. Um aber ganz sicher in Bezug auf die Vorgaben für einen therapeutischen Bereich zu sein, haben wir nach Erhalt der Daten und Abschluß der Studie das Anwendungsregime für NMH in der Gefäßchirurgie durch eine Erhöhung der

Dalteparin-Dosis auf 35 I.E./ml Dalteparin/kgKG abgeändert und es wird seitdem so angewandt.<sup>2</sup>

**Tabelle 7: Dosierungsschema Fragmin® (neu)**

<b>Frauen kg/KG</b>	<b>Männer kg/KG</b>	<b>I.E. Fragmin NMH (i.v.) ( 35 I.E. / kg KG )</b>	
50	40	1.750	2000 I.E.
55	45	1.925	
60	50	2.100	
65	55	2.275	2500 I.E.
70	60	2.450	
75	65	2.625	
80	70	2.800	3000 I.E.
85	75	2.975	
90	80	3.150	
95	85	3.325	
100	90	3.500	3500 I.E.

<sup>2</sup> Tabelle 7: Dosierungsschema Fragmin® (neu).

Der primäre Zielparameter der Studie, die Variabilität der Anti-Faktor-Xa-Aktivität, wurde in der Dalteparingruppe als hochsignifikant ( $p < 0,0001$ ) kleiner als in der UFH-Gruppe nachgewiesen. Der erwünschte therapeutische Bereich von Anti-Faktor-Xa-Aktivität von 0,5 I.E./ml bis 1,0 I.E./ml aber konnte nicht erreicht werden, daher ist eine Dosisanpassung von Dalteparin an den therapeutischen Bereich zu empfehlen. In Anbetracht der Tatsache, daß BRATT et al.(7) nach der intravenösen Gabe eines Bolus von 40 I.E./ml Anti-Faktor-Xa/ kgKG Dalteparin Anti-Faktor-Xa-Aktivitäten von ca. 1,2 I.E./ml erreicht haben und in dieser Studie nach intravenöser Gabe eines Bolus von 27 I.E./ml Anti-Faktor-Xa/kgKG Dalteparin Anti-Faktor-Xa-Aktivitäten durchschnittlich von 0,48 I.E./ml erzielt wurden, ist eine Dosisanpassung von Dalteparin um 8 I.E./ml/kgKG auf 35 I.E./ml/kgKG zu empfehlen. Dies sollte noch durch weitere Studien untersucht werden. In Anlehnung der Dosierungsschema ist eine gewichtsadaptierte intravenöse Gabe des Dalteparin von 2000 I.E. bis 3500 I.E. zu empfehlen.

Die günstigen Eigenschaften der niedermolekularen Heparine, die durch zahlreiche, als auch durch die vorliegende Studie bestätigt wurden, unterstützen und bestätigen die Empfehlung des Einsatzes von niedermolekularen Heparinen als intravenöse Applikation bei gefäßchirurgischen Eingriffen am arteriellen Gefäßsystem zur Erlangung einer optimalen, sicheren und nicht kontrollbedürftigen Blutverdünnung.

## 7. Zusammenfassung

Zahlreiche Studien konnten die erhöhte prophylaktische Wirkung vom niedermolekularen Heparin gegenüber unfraktioniertem Heparin nachweisen.

In der vorliegenden Studie wurde die intravenöse Applikation von Dalteparin (Fragmin®) im Vergleich zu unfraktioniertem Heparin (UFH) in der rekonstruktiven Carotis- Chirurgie untersucht.

80 Patienten wurden in die Studie aufgenommen.

Die primäre Zielsetzung dieser prospektiven Studie ist die Untersuchung der Variabilität der Anti-Faktor-Xa-Aktivität und der Anti-Faktor-IIa-Aktivität nach intravenöse Applikation von UFH bzw. Dalteparin zur intraoperativen arteriellen Thromboseprophylaxe in der rekonstruktiven Carotis-Chirurgie.

Die zu prüfende Hypothese : Die intraoperative Anwendung von Dalteparin im Rahmen der Carotis-TEA ist mit einer geringeren Variabilität der Anti-F-Xa-Aktivität und der Anti-F-IIa-Aktivität im Vergleich zu der Anwendung von UFH verbunden, konnte durch einen signifikanten Unterschied ( $p < 0.0001$ ) der Variabilität beider Gruppen nach Brown-Forsythe Test nachgewiesen werden.

Diese Vorteile, verbunden mit einer erhöhten Effektivität und weniger Komplikationen machen NiederMolekulare Heparine (z.B. Dalteparin) nicht nur für die subkutane Anwendung, sondern auch für den intraoperativen Einsatz zur intravenösen Applikation in der Gefäßchirurgie interessant.

Dalteparin ist mit einer gewichtsadaptiert empfohlenen Dosierung von 2.000 I.E bis 3.500 I.E. Fragmin i.v. sehr gut für die Prophylaxe thromboembolischer Komplikationen im Hochrisikobereich der Carotis-Chirurgie geeignet.

## 8. Literatur

1. Albada J, Nieuwenhuis HK, Sixma JJ: Treatment of acute venous thromboembolism with low molecular weight heparin (Fragmin). *Circulation* 80 (1989): 935-40.
2. Alhenc-Gelas M, Jestin-le Guernic C, Vitoux JF, Kher A, Aiach M, Fiessinger JN: Adjusted versus fixed doses of the low-molecular-weight heparin Fragmin in the treatment of deep vein thrombosis. *Thromb Haemost* 71 (1994): 698-702.
3. Andersson LO, Barrowcliffe TW, Holmer E, Johnson EA, Sonderstrom G: Molecular weight dependency of the heparin potentiated inhibition of thrombin and activated factor X. Effect of heparin neutralization in plasma. *Throm Res.* 15 (1979): 531-41.
4. Bara L, Billaud E, Gramond G, Kher A, Samama M: Comparative pharmacokinetics of low molecular weight heparin (PK 10 169) and unfractionated heparin after intravenous and subcutaneous administration. *Thromb Res* 39 (1985): 631-6.
5. Björnsson TD, Wolfram KM, Kitchell BB: Heparin kinetics determined by three assay methods. *Clin Pharmacol Ther* 31 (1982): 104-13.
6. Blajchman MA, Young E, Ofosu FA: Effects of unfractionated heparin, dermatan sulfate and low molecular weight heparin on vessel wall permeability in rabbits. *Ann NY Acad Sci* 556 (1989): 245-54.
7. Bratt G, Törnebohm E, Lockner D, Bergström K: A human pharmacological study comparing conventional heparin and low molecular weight heparin fragment. *Thromb Haemost* 53 (1985): 208-11.
8. Cade JF, Buchanan MR, Boneu B, Ockelford P, Carter CJ, Cerskus AL, Hirsh J: A comparison of the antithrombotic and haemorrhagic effects of low molecular weight heparin fractions: the influence of the method of preparation. *Thromb Res* 35 (1984): 613-25.
9. Carter CJ, Kelton JG, Hirsh J, Cerskus A, Santos AV, Gent M: The relationship between the hemorrhagic and antithrombotic properties of low molecular weight heparin in rabbits. *Blood* 59(1982): 1239-45.
10. Coyne TJ, Wallace MC, Benedict C: Peri-operative anticoagulant effects of heparinization for carotid endarterectomy. *Aust N Z J Surg* 64(10)(1994): 679-83.
11. Dawes J, Pavuk N: Sequestration of therapeutic glycosaminoglycans by plasma fibrinogen. *Thromb Haemost* 65 (1991): 829 (Abstrakt).

12. De Swart CAM, Nijmeyer B, Roelofs JMM, Sixma JJ: Kinetics of intravenously administered heparin in normal humans. *Blood* 60 (1982): 1251-8.
13. Dorman BH, Elliott BM, Spinale FG, Bailey MK, Walton JS, Robison JG, Brothers TE, Cook MH: Protamine use during peripheral vascular surgery: a prospective randomized trial.: *J Vasc Surg* 22(3)(1995): 248-55.
14. Eder S, Hamann H: Heparininduzierte Thrombocytopenie Typ II. *Chirurg* 70 (1999): 1149-55.
15. Eriksson BI, Kälebo P, Anthmyr BA, Wadenwik H, Tengborn L, Risberg B: Prevention of deep-vein thrombosis and pulmonary embolism after total hip replacement. *J Bone Joint Surg* 74A (1991): 484-93.
16. Eriksson BI, Söderberg K, Widlund L, Wandeli B, Tengborn L, Risberg B: A comparative study of three low-molecular weight heparins (LMWH) and unfractionated heparin (UH) in healthy volunteers. *Thromb Haemost* 73 (1995): 398-401.
17. European Carotid Surgery Trialists' Collaborative Group. Randomised trial of endarterectomy for recent symptomatic carotid stenosis: final results of the MRC European Carotid Surgery Trial (ECST). *Lancet* 351 (1998): 1379-87.
18. Fernandez F, Nguyen P, Van Ryn J, Ofosu FA, Hirsh J, Buchanan MR: Hemorrhagic dose of heparin and other glycosaminoglycans induce platelet defect. *Thromb Res* 43 (1986): 491-5.
19. Gouault-Heilmann M, Huet Y, Contand G, Payen D, Block G, Rapin M: Cardiopulmonary bypass with a low-molecular-weight heparin fraction. *Lancet* (1983): 1374.
20. Gould MK, Dembitzer AD, Doyle RL, Hastie TJ, Garber AM: Low molecular weight heparin compared with unfractionated heparin for the treatment of acute deep venous thrombosis: a meta-analysis of randomized controlled trails. *Ann Intern Med* 130 (1999): 800-09.
21. Gowers WR: Ophthalmoskopie in der inneren Medizin. Deutsche Übersetzung von Grube 1893, S.37 und 169. *A Manual of Diseases of the Nervous System*, 2. Aufl. Bd. II, London (1893).
22. Greinacher A, Pötzsch B, Amiral J, Dummel V, Eichner A, Müller-Eckhardt C: Heparin-associated thrombocytopenia: isolation of the antibody and characterization of a multimolecular PF-4-heparin-complex as the major antigen. *Thromb Haemost* 71 (1994): 247-51.
23. Greinacher A: Antigen generation in heparin-associated thrombocytopenia: the non-immunologic type and the immunologic type are closely linked in their pathogenesis. *Semin Thromb Hemost* 21 (1995): 106-16.



24. Harenberg J, Giese Ch, Knödler A, Zimmermann R, Schettler G: Neutralisierung von niedermolekularem Heparin Kabi 2165 mit Protaminchlorid. *Klin Wochenschr* 64 (1986): 1171-75.
25. Hirsh J, Levine MN: Low molecular weight heparin. *Blood* 79 (1992): 1-17.
26. Hirsh J, Shaughnessy SG, Halperin JL, Granger C, Ohman EM, Dalen JE: Heparin and low-molecular-weight heparin: Mechanisms of action, pharmacokinetics, dosing, monitoring, efficacy, and safety. *Chest* 119 Suppl.(2001): 64 S-94 S.
27. Hirsh J, van Aken WG, Gallus AS, Dollery CT, Cade JF, Yung WL: Heparin kinetics in venous thrombosis and pulmonary embolism. *Circulation* 67 (1976): 691-5.
28. Hsia DC, Moscoe LM, Krushat WM: Epidemiology of carotid endarterectomy among medicare beneficiaries. 1985-1996 Update. *Stroke* 29 (1998): 346-50.
29. Kakkar VV, Cohen AT, Edmonson RA, Phillips MJ, Cooper DJ, Das SK, Maher KT, Sanderson RM, Ward VP, Kakkar S: Low molecular weight versus standard heparin for prevention of venous thromboembolism after major abdominal surgery. *Lancet* 341 (1993): 259-65.
30. Kresowik TF, Bratzler D, Karp HR, Hemann RA, Hendel ME, Grund SL, Brenton M, Ellerbeck EF, Nilasena DS: Multistate utilization, processes, and outcomes of carotid endarterectomy. *J Vasc Surg* 33 (2001): 227-35.
31. Kronemam H, Eikelboom BC, Knot EA, De Smit P, Groenland TH, De Maat MP, Van Urk H: Pharmacokinetics of low-molecular-weight heparin and unfractionated heparin during elective aortobifemoral bypass grafting. *J Vasc Surg* 14 (1991): 208-14.
32. Kunkel JM, Gomez ER, Spebar ML, Delgado RJ, Jarstfer BS, Collins GJ: Wound hematomas after carotid endarterectomy. *Am J Surg* 148 (1984): : 844-7.
33. Lane DA, Pejler G, Flynn AM, Lindahl U: Neutralization of heparin-related saccharides by histidin-rich glycoprotein an platelet factor 4. *J Biol Chem* 261 (1986):3980-6.
34. Lee BY, Thoden WR, Mc Cann WJ, Madden JL, Del Guercio LR, Berkowitz P: Intraoperative anticoagulation during arterial reconstructive procedures: *Surg Gynecol Obstet* 155(6)(1982): 809-12.
35. Martin P, Greenstein D, Gupta NK, Walker DR, Kester RC: Systemic heparinization during peripheral vascular surgery: Thromboelastographic, activated coagulation time, and heparin titration monitoring. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 8 (1994): 150-2.

36. Mauney MC, Buchanan SA, Laurence WA, Bishop A, Sinclair K, Daniel TM, Tribble CG, Kron IL: Stroke rate is markedly reduced after carotid endarterectomy by avoidance of protamine. *J Vasc Surg* 22 (1995): 264-9.
37. Morabia A: Heparin dose and major bleedings. *Lancet* (1986): 1278-79.
38. Murray G: Heparin in surgical treatment of blood vessels. *Arch Surg* 40 (1940): 307-25.
39. North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial Collaborators. Beneficial effect of carotid endarterectomy in symptomatic patients with high grade carotid stenosis. *N Eng J Med* 325 (1991): 445-53.
40. Palm M, Mattsson CH: Pharmacokinetics of heparin and low molecular weight heparin fragment (Fragmin) in rabbits with impaired renal or metabolic clearance. *Thromb Haemost* 58 (1987): 932-35.
41. Paty PSK, Darling C, Kreienberg PB, Chang BB, Groudine SB, Sakawi Y, Worth G, Lloyd WE, Rockmore J, Shah DM: The use of low-dose heparin is safe in carotid endarterectomy and avoids the use of protamine sulfate. *Cardiovascular Surgery* 7(1) (1999):39-43.
42. Pérez-Requejo JL, Lucena-Solano O, Pérez-García M, Santarelli MT: Very low doses of unfractionated heparin potentiate the Anti-Xa-activity of low molecular weight heparin (Enoxaparin). *Thromb Res* 85 (1997): 259-65.
43. Piepgras DG, Sundt TM, Didisheim P: Effect of anticoagulants and inhibitors of platelet aggregation on thrombotic occlusion of endarterectomized cat carotid arteries. *Stroke* 7 (1976): 248-54.
44. Porte RJ, De Jong E, Knot EA, De Maat MP, Terpstra OT, Van Urk H, Groenland TH: Monitoring heparin and haemostasis during reconstruction of the abdominal aorta. *Eur J Vasc Surg* 1(6) (1987): 397-402.
45. Riles TS, Imparato AM, Jacobowitz GR, Lamparello PJ, Giangola G, Adelman MA, Landis R: The cause of perioperative stroke after carotid endarterectomy. *J Vasc Surg* 19 (1994): 206-16.
46. Robinson MH, Studley JG, Powis SJ: Anticoagulation in abdominal aortic aneurysm surgery: the approach of vascular surgeons in Great Britain and Ireland. *Eur J Vasc Surg* 3(2) (1989):141-3.
47. Salenius JP, Harju E, Riekkinen H: Early cerebral complications in carotid endarterectomy: risk factors. *J Cardiovasc Surg* 31 (1990): 162-67.
48. Samama CM, Gigou F, Ill P for the Enoxart Study Group, Paris, France: Low-molecular-weight heparin vs. unfractionated heparin in femorodistal reconstructive surgery: a multicenter open randomized study. *Ann Vasc Surg* 9(Suppl.) (1995): 45-53.

49. Schrader J, Rieger J, Muschen H, Stibbe W, Köstering H, Kramer P, Scheler F: Anwendung von niedermolekularem Heparin bei Hämodialysepatienten. *Klin Wochenschr* 63 (1985): 49-55.
50. Self DD, Bryson GL, Sulliva PJ: Risk factors of post-carotid endarterectomy hematoma formation. *Can J Anaest* 46 (1999): 635-40.
51. Sobel M, McNeill PM, Carlson PL, Kermode JC, Adelman B, Conroy R, Marques D: Heparin inhibition of von Willebrand factor-dependent platelet function in vitro an in vivo. *J Clin Invest* 87 (1991): 1787-93.
52. Swedenborg J, Nydahl S, Egberg N: Low molecular mass heparin instead of unfractionated heparin during infrainguinal bypass surgery. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 11 (1996): 59-64.
53. Vollmar J: Verschlüsse der supraaortischen Äste. In: Vollmar J (Hrsg.): *Rekonstruktive Chirurgie der Arterien*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, (1996): 302.
54. Vollmar J: Verschlüsse der supraaortischen Äste. In: Vollmar J (Hrsg.): *Rekonstruktive Chirurgie der Arterien*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, (1996): 284.
55. Warkentin TE, Kelton JG: Interaction of heparin with platelets, including heparin-induced thrombocytopenia. In: *Low-molecular-weight heparins in prophylaxis and therapy of thromboembolic diseases*. Hsg.: Bounameaux, H. Vol. 19 of *Fundamental and clinical cardiology*. Marcel Dekker., New York (1994): 75-127.
56. Warkentin TE, Levine MN, Hirsh J, Horsewood P, Roberts RS, Gent M, Kelton JG: Heparin-induced thrombocytopenia in patients treated with low molecular-weight heparin or unfractionated heparin. *N Engl J Med* 332 (1995): 1330-5.
57. Weilemann LS, Giesen HU, Swars H, Schinzel H, Hafner G, Ehrenthal W: Einfluß von niedermolekularem Heparin auf die Gerinnungsaktivierung bei Sepsis. *Intensivmed* 29 (1992): 162-165.
58. Welling RE, Ramadas HS, Gansmeller KJ: Cervical wound hematoma after carotid endarterectomy. *Ann Vasc Surg* 3 (1989): 229-31.
59. Wepfer JJ: *Observationes anatomicae ex cadaveribus eorum, quos sustulit apoplexia (cum exercitatione de eius loco affecto)*. J.C.Suteri, Schaffhausen (1658): 670.
60. Zidane M, Schram MT, Planken EW, Molendijk WH, Rosendaal FR, Van der Meer FJM, Huisman MV: Frequency of major hemorrhage in patients treated with unfractionated intravenous heparin for deep venous thrombosis or pulmonary embolism. *Arch Intern Med* 160 (2000): 2369-73.