

Aus der Klinik für Kardiologie und Pulmologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

„Die Bedeutung der Thrombozytenaktivierung in der
Pathogenese und Behandlung kardiologischer Erkrankungen“

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité –
Universitätsmedizin Berlin

von

Ulf Weikert

aus Eisenhüttenstadt

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. U. Rauch-Kröhnert
2. Priv.-Doz. Dr. med. C. Butter
3. Prof. Dr. med. M. Zabel

Datum der Promotion: 07.12.2007

Zusammenfassung:

Thromboembolische Ereignisse treten bei Patienten mit DCM vermehrt auf und haben einen erheblichen Einfluss auf die Prognose der Erkrankung. Aber auch bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt und erfolgter Koronarintervention ist insbesondere nach Absetzen von periinterventionell verabreichten GP IIb/IIIa-Rezeptorantagonisten das Thromboserisiko deutlich erhöht. Durch Gabe von ADP-Inhibitoren soll nach Stent-Implantation bei Patienten mit KHK eine Stentthrombose verhindert werden.

In unserer Studie untersuchten wir, inwiefern

1. eine erhöhte Plättchenaktivierung bei Patienten mit DCM zu finden und dies mit einer Entzündung im Myokard assoziiert ist.
2. die Kombination von einem Statin und Clopidogrel im Vergleich zu einer Clopidogrel-Monotherapie die Plättchenfunktion verändert und
3. die Gabe von Abciximab während der Koronarintervention die in vivo Thrombozytenaktivität und die Agonist-induzierte Aggregabilität beeinflusst.

Zur Messung der Thrombozytenfunktion wurde den Patienten mit DCM und mit KHK venöses Blut entnommen und die Expression von Thrombozytenoberflächenproteinen durchflußzytometrisch quantifiziert. Die Agonist induzierte Thrombozytenreaktivität wurde im Vollblut und an Thrombozytensuspensionen bestimmt.

Eine erhöhte Plättchenaktivierung zeigt sich im zirkulierenden Blut von Patienten mit Kardiomyopathie verglichen mit gesunden Kontrollen. Die verstärkte Thrombozytenaktivierung ist dabei mit dem Vorhandensein von entzündlichen Infiltraten im Myokard der Patienten assoziiert. Eine antithrombozytäre Therapie könnte hier eventuell von Nutzen.

Eine Reduktion der Plättchendegranulation und eine Senkung der Thrombozytenagglutination erfolgt sowohl unter einer Monotherapie mit Clopidogrel als auch unter der Kombination von Statinen und Clopidogrel. Die in einigen Studien beschriebenen Interaktionen zwischen Atorvastatin und Clopidogrel resultieren nicht in einer gestörten Plättchenhemmung.

Abciximab reduziert die Thrombozytenaggregationsfähigkeit deutlich, jedoch ist demgegenüber ein signifikanter Anstieg der Thrombozytenaktivierung zu verzeichnen. Diese trägt zu einer verstärkten Thrombogenität des Blutes bei und könnte den mit der Beendigung einer Abciximabtherapie assoziierten Rebound-Effekt erklären.

Insgesamt wird in diesen Arbeiten die Bedeutung der Thrombozytenfunktion für die Behandlung und Prognose kardiologischer Patienten verdeutlicht.

Einleitung und Zielstellung

Die Blutplättchen spielen eine wichtige Rolle im zellulären Gerinnungssystem. Über eine Aktivierung der Thrombozyten wird die Gerinnungskaskade mit der am Ende stehenden Bildung eines Thrombus initiiert. Dadurch kommt den Thrombozyten eine bedeutende Stellung in der Pathogenese und bei der Behandlung kardiologischer Erkrankungen wie der dilatativen Kardiomyopathie (DCM) oder der koronaren Herzerkrankung (KHK) zu. Bei Patienten mit DCM ist das Thromboserisiko deutlich erhöht [1,2]. Die verkürzte Überlebenszeit der Blutplättchen bei diesen Patienten deutet auf eine Aktivierung von Thrombozyten und deren Verbrauch hin [3]. Klinisch sind entzündliche Krankheiten häufig mit einer erhöhten Thrombozytenreaktivität des Blutes vergesellschaftet [4,5]. Ein Zusammenhang zwischen den Entzündungen im Myokard und einer erhöhten Plättchenreaktivität bei DCM wurde jedoch bisher nicht gezeigt.

Bei der Behandlung und Therapie von Patienten mit KHK spielt die Plättchenaktivierung ebenfalls eine Schlüsselrolle. Sie ist ein unabhängiger Prädiktor für das Auftreten von thrombo-ischämischen Ereignissen bei Patienten mit stabiler Angina pectoris [6]. Besonders Patienten mit akutem Myokardinfarkt (AMI) nach notfallmäßiger perkutaner Koronarintervention (PCI) sind durch thrombotische Ereignisse gefährdet [7,8]. Einerseits wird durch Hemmung der Plättchenreaktivität mittels Gabe von ADP-Rezeptor-Antagonisten nach erfolgter Stent-Implantation sowie von Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptor-Antagonisten beim akuten Koronarsyndrom (ACS) eine deutliche Verbesserung der klinischen Prognose erreicht [9,10]. Andererseits wird aber auch eine verminderte Wirkung von Clopidogrel bei gleichzeitiger Gabe von verschiedenen Medikamenten, z.B. durch bestimmte Statine, durch Wechselwirkungen am Cytochrom P450 postuliert [11,12]. Bei der Behandlung mit Abciximab werden akute thrombotische Ereignisse nach Beendigung der medikamentösen Therapie beobachtet [13]. Inwieweit die Thrombozytenaktivierung unter gleichzeitiger Gabe von Clopidogrel und Atorvastatin oder unter einer periinterventionellen Gabe von Abciximab verändert ist, wurde bisher nicht ausreichend untersucht. In unseren Studien gingen wir der Frage nach, inwiefern

4. eine erhöhte Plättchenaktivierung bei Patienten mit DCM zu finden und dies mit der Entzündung im Myokard assoziiert ist.
5. die Kombination von einem Statin und Clopidogrel im Vergleich zu einer Clopidogrel-Monotherapie die Plättchenfunktion verändert und
6. die Gabe von Abciximab während der Koronarintervention die in vivo Thrombozytenaktivität und die Agonist-induzierte Aggregabilität beeinflusst.

Methoden:

Studiendesign I:

Um die Thrombozytenaktivierung bei DCM-Patienten mit und ohne myokardiale Inflammation zu untersuchen, wurden in dieser Studie 45 Patienten mit einer Kardiomyopathie eingeschlossen. Eine linksventrikuläre Dysfunktion wurde diagnostiziert, wenn die Ejektionsfraktion weniger als 55% betrug oder Wandbewegungsstörungen in mindestens zwei Wandsegmenten nachzuweisen waren. Alle Patienten wurden einer echokardiographischen Untersuchung unterzogen. Ferner wurde eine Links- und Rechtsherzkatheteruntersuchung mit hämodynamischen Messungen und einer Koronarangiographie durchgeführt. 45 Probanden ohne bekannte strukturelle Herzerkrankung dienten als Kontrollgruppe. Diese Patienten erhielten keine orale Medikation.

Studiendesign II

Zur Verhinderung einer akuten Stentthrombose erfolgt nach der Stentimplantation zur Thrombozytenhemmung eine medikamentöse Therapie mit Clopidogrel. In der Regel werden diese Patienten zeitgleich mit einem Statin behandelt. Beide Medikamente werden meistens über das Cytochrom P450 in der Leber metabolisiert. Die Studie wurde durchgeführt, um festzustellen, ob Atorvastatin die thrombozytenfunktionshemmende Wirkung von Clopidogrel beeinflusst. In diese Studie wurden 34 gesunde Kontrollpersonen eingeschlossen. Die Kontrollen nahmen vor und während der Studie keine weiteren Medikamente außer der Studienmedikation ein. Es erfolgte eine randomisierte Einteilung in zwei Gruppen: Die erste Gruppe (A) wurde ausschließlich mit Clopidogrel behandelt und die zweite Gruppe (B) erhielt zusätzlich für die Dauer von acht Tagen Atorvastatin in einer Dosis von 20 mg pro Tag. Clopidogrel wurde zusätzlich ab dem dritten Tag der Atorvastatingabe verabreicht. Die dritte Gruppe (C) bestand aus 15 Patienten mit stabiler koronarer Herzerkrankung, welche durch eine vorangegangene Herzkatheteruntersuchung dokumentiert wurde. Alle in die Studie eingeschlossenen Kontrollpersonen und Patienten erhielten Clopidogrel in einer Sättigungsdosis von 300 mg Clopidogrel, gefolgt durch eine Erhaltungsdosis von 75 mg/d für die Dauer von 4 Tagen. Venöses Blut wurde vor der Gabe von Atorvastatin (nur Gruppe B) und vor sowie 4, 24, 96 h nach Behandlung mit Clopidogrel entnommen. Das Blut diente zur Messung der Thrombozytenaggregabilität sowie der ADP- bzw. TRAP induzierten Plättchenreaktivität..

Studiendesign III

Neben der Gabe von Clopidogrel nach Stent-Implantation wird zur Verhinderung thrombotischer Ereignisse bei Patienten mit KHK und einem akutem Koronarsyndrom eine Therapie mit einem GP IIb/IIIa Inhibitor durchgeführt. Diese Inhibitoren verhindern eine Aggregation von Thrombozyten über Fibrinogenbrücken zwischen aktivierten GP IIb/IIIa Rezeptoren verschiedener Blutplättchen. Das Auftreten von akuten Stentthrombosen nach Absetzen der GP IIb/IIIa Inhibitoren wurde als eine Komplikation in der Literatur beschrieben. Um die Bedeutung der GP IIb/IIIa Inhibitoren auf die Thrombozytenfunktion und -degranulation zu erfassen, untersuchten wir in der dritten Studie Patienten mit einem akutem Koronarsyndrom (n=30). Davon wurden 15 Patienten periinterventionell mit dem GP IIb/IIIa Rezeptorantagonisten Abciximab behandelt. Die anderen 15 Patienten erhielten ebenfalls eine Koronarintervention, jedoch erfolgte keine zusätzliche Behandlung mit einem GP IIb/IIIa Antagonisten. Die in beiden Patientengruppen erhobenen Daten wurden miteinander verglichen. Die aktivierungsabhängigen Thrombozytenoberflächenproteine P-Selektin (CD62P) und lysosomales GP53 (CD 63) wurden durchflußzytometrisch quantifiziert und dienten als ein Maß der in vivo Thrombozytenaktivierung. Die Blutentnahmen erfolgten vor Beginn der Gabe eines Abciximab-Bolus (0.25 mg/kg), während der 12 Stunden andauernden Abciximab-Infusion (0.125 µg/kg/min, 30 min und 12 h nach Bolusgabe) und nach Beendigung der Abciximab-Therapie (24 h nach Bolusgabe). Parallel zur durchflußzytometrischen Analyse erfolgte die Bestimmung der Plättchenaggregationsfähigkeit anhand eines Plättchenaggregationsassay.

Experimentelle Methodik:

Untersuchungen der endomyokardialen Biopsien und Immunhistologie

In der ersten Studie wurden mehrere endomyokardiale Biopsien bei Patienten mit DCM standardmäßig über einen perkutanen transvenösen Zugang mit Hilfe eines Biotom entnommen. Die Myokardproben wurden sofort nach Entnahme in Flüssigstickstoff bei schockgefroren und danach in „Tissue Tec“ eingebettet. Die an einem Kryostat hergestellten Schnitte wurden immunhistologisch auf das Vorliegen von Infiltraten CD3-positiver T-Lymphozyten untersucht [14,15]. Bei einer erhöhten Lymphozytenzahl (≥ 2 CD3-positiv Lymphozyten pro Sichtfeld (high power field (HPF)/ 400 fache Vergrößerung) wurde die Diagnose einer inflammatorischen Kardiomyopathie gestellt (IK+). Bei Vorhandensein einer niedrigen T-Lymphozytenzahl (CD3-positiv Zellen < 2

/HPF) wurde von dem Vorliegen einer entzündungsnegativen, so genannten idiopathischen DCM (IK-) ausgegangen.

Durchflußzytometrie

Mit Hilfe durchflußzytometrischer Analysemethoden wurde die thrombozytären Oberflächenproteinen quantifiziert. Die jeweiligen Antigene (CD62P, CD63, Thrombospondin) werden zuvor durch spezifische mit Fluorochrom gekoppelte Antikörper markiert. Durch Laserlicht erfolgt eine Anregung des Fluorochroms. Das für jedes Fluorochrom mit einer spezifischen Wellenlänge emittierte Licht wird detektiert und somit kann auf die Menge der Oberflächenmoleküle in der analysierten Thrombozytensuspension geschlossen werden. Zur Untersuchung der Thrombozytenreaktivität wurde aus Vollblut plättchenreiches Plasma gewonnen (PRP). Die Thrombozyten wurden mehrfach in physiologischem Puffer gewaschen, gezählt (Coulter Counter) und mit einem physiologischen Puffer auf eine Konzentration von 50,000 Thrombozyten/ μ l verdünnt. Zu dieser Plättchensuspension wurden die spezifischen gegen die aktivierungsabhängigen Marker Thrombospondin, P-Selektin und CD 63 sowie den konstitutiv exprimierten GP IIb/IIIa gerichteten Antikörper in austitrierter Sättigungskonzentration hinzugegeben. Nach Inkubation mit dem Erstantikörper erfolgte die Gegenmarkierung mit Anti-Mouse F(ab)2-FITC. Um die unspezifisch gebundenen Fluoreszenzfarbstoffes zu bestimmen, wurde parallel eine Probe mit dem entsprechenden Isotyp-Antikörper Mouse-IgG inkubiert. Die Quantifizierung der Adhäsionsproteine erfolgte am Durchflußzytometer (FACScan, Becton Dickinson).

Thrombozytenaggregabilität

Zur Messung der Plättchenaggregation in Zitratvollblut wurde ein „Bedsite Test“, das Gerät „Ultegra-RPFA™“ verwendet. Die Bestimmung der Thrombozytenaggregation erfolgte zu den gleichen Zeitpunkten wie die Plättchenaktivierungsmessung. Nach Stimulation mit thrombin receptor activating peptide (iso-TRAP, Endkonzentration 4 μ M) agglutinierten in den Messkassetten vorhandene fibrinogenbeschichtete Polystyrenekugeln mit den GP IIb/IIIa Rezeptoren der Thrombozyten. Die durch die Agglutination der Thrombozyten entstehende Veränderung der Lichtabsorbtion der Probe wurde quantifiziert und die Daten als Plättchenaggregationseinheiten (PAU) wiedergegeben.

Statistik

Zur Testung der Normalverteilung der Daten wurde der Kolmogoroff-Smirnov-Test verwendet. Bei Normalverteilung erfolgte der Vergleich mit dem Student-t Test und die Daten wurden in Mittelwert \pm Standardabweichung angegeben. Bei nicht normal verteilten Daten erfolgte der Wilcoxon's rank Test und Darstellung der Daten als Median und Interquartilen. Mit Hilfe des Mann-Whitney U Test wurden verschiedene Gruppen verglichen. p-Werte $\leq 0,05$ wurden als signifikant gewertet.

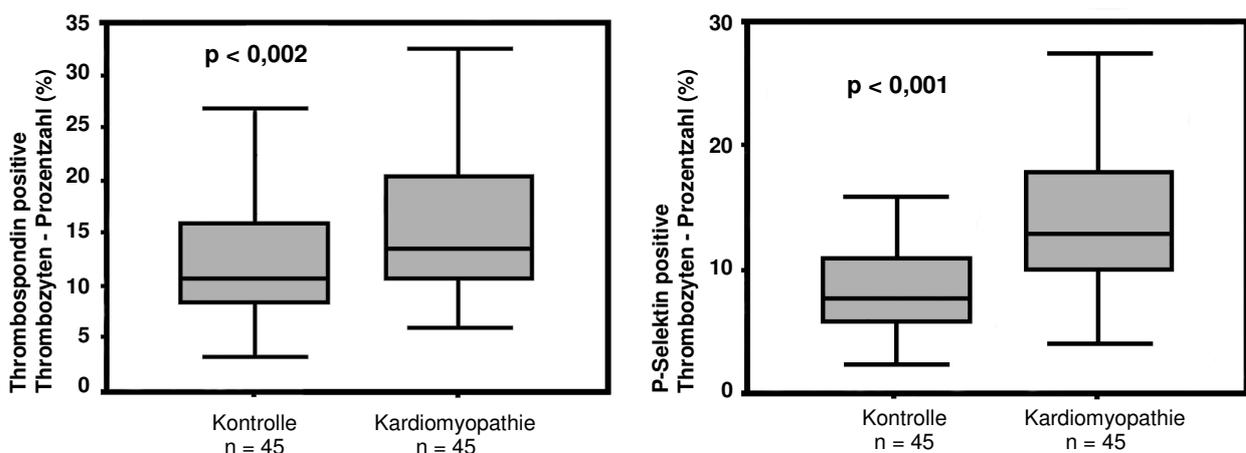
Ergebnisse und Diskussion:

Studie I

Inflammatorische Veränderungen sind im Myokard von Patienten mit Kardiomyopathie vorhanden. Das erhöhte Risiko thromboembolischer Komplikationen bei diesen Patienten lässt eine chronische Aktivierung der Thrombozyten vermuten. Bisher wurde allein die Blutstase innerhalb der dilatierten Ventrikel für die thromboembolischen Komplikationen verantwortlich gemacht. Um die Frage zu beantworten, ob Patienten mit Kardiomyopathie eine veränderte Plättchenfunktion aufweisen und dies mit inflammatorischen Veränderungen im Myokard assoziiert ist, untersuchten wir die Thrombozytenaktivierung von Patienten mit Kardiomyopathie.

Eine erhöhte Plättchenaktivierung, gemessen an den P-Selektin- und Thrombospondin-positiven Thrombozyten, zeigte sich im zirkulierenden Blut von Patienten mit Kardiomyopathie verglichen mit den gesunden Kontrollenpersonen (Abbildung 1).

Abbildung 1:



Legende zu Abbildung 1:

Plättchenadhäsionsproteine im Blut: A: Thrombospondin, B: P-Selektin. Die Daten wurden als Median und Quartilen [25; 75] wiedergegeben. Es zeigt sich eine signifikant erhöhte Plättchenaktivierung bei Patienten mit DCM im Vergleich zu gesunden Kontrollen.

Die Plättchenaktivierung war mit dem Vorhandensein von entzündlichen Infiltraten im Myokard bei diesen Kardiomyopathie-Patienten assoziiert. Eine erhöhte Prozentzahl P-Selektin- und Thrombospondin-positiver Thrombozyten wurde im Blut von Patienten mit einer myokardialen Inflammation verglichen mit Patienten ohne entzündliche Veränderungen im Myokard oder Kontrollen nachgewiesen (Tabelle 1).

Tabelle 1:

	Kontrollen	IK -	IK+
Thrombospondin (%)	10,6 (8,2; 16,0)	12,3 (9,9; 16,0)	19,0 (11,0; 26,3)*
P-Selektin (%)	7,7 (5,8; 10,9)	12,7 (7,0; 18,0) ¶	12,3 (9,3; 19,3) ¶
GP IIb/IIIa (AE)	215 (188; 248)	276 (236; 297) ¶	290 (268; 338) ¶

Legende zu Tabelle 1:

Thrombospondin, P-Selektin und GP IIb/IIIa auf der Thrombozytenoberfläche bei Patienten mit DCM und gesunden Kontrollen. Die Ergebnisse wurden als prozentualer Anteil Marker-positiver Thrombozyten bzw. für den GP IIb/IIIa Rezeptor als Median der Immunfluoreszenz (Arbeitseinheiten, AE) angegeben. * p<0,05 im Vergleich zu Kontrollen und IK-; ¶ p<0,05 im Vergleich zu Kontrollen

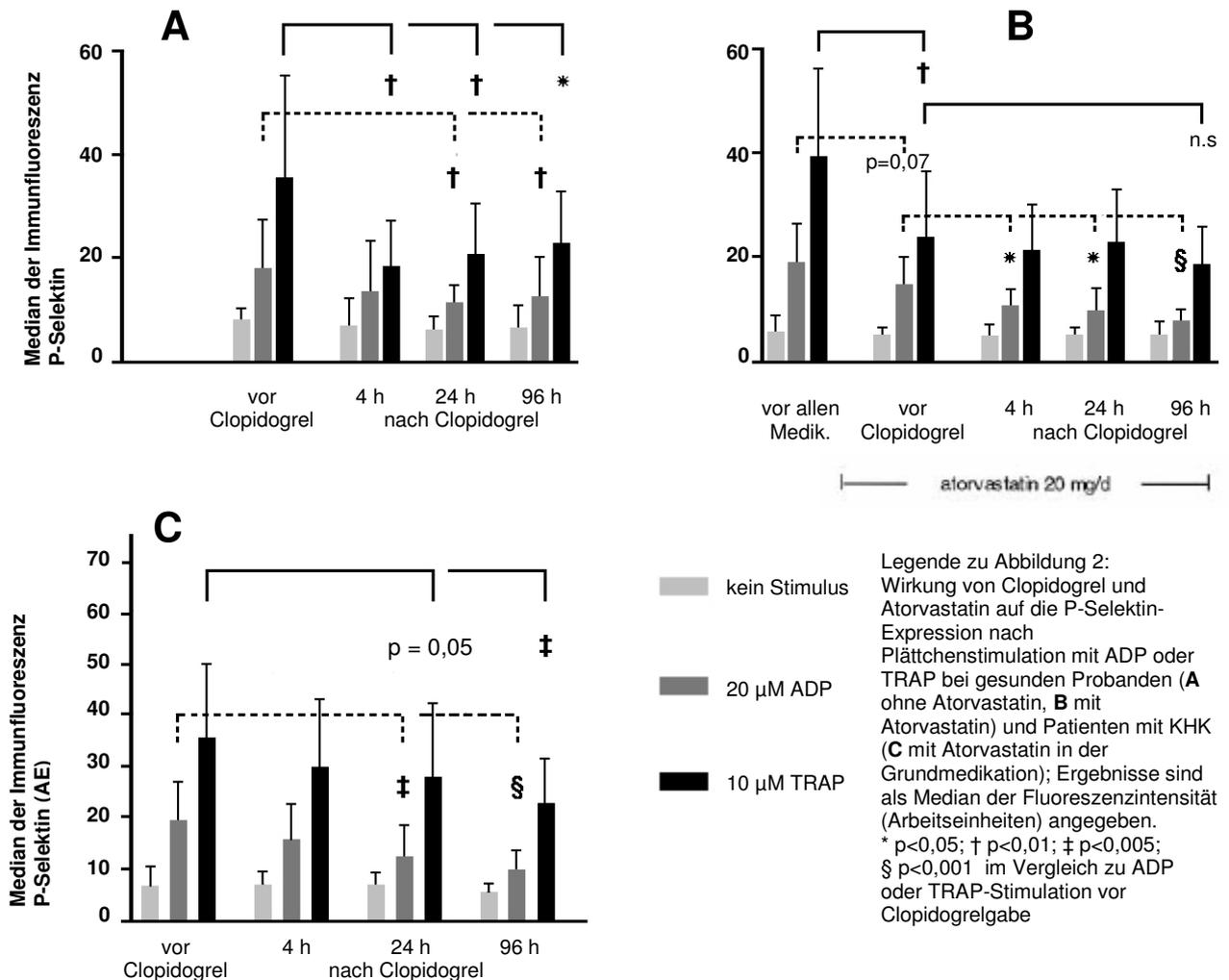
Eine Korrelation zwischen der Ejektionsfraktion und der Plättchenaktivierung ergab sich bei unseren Patienten nicht. Thrombospondin und P-Selektin werden bei der Degranulation von Thrombozyten aus den Alpha-Granula der Plättchen freigesetzt. Somit deuten die Daten auf eine anhaltende Plättchenaktivierung bei Patienten mit Kardiomyopathie hin. Das Vorhandensein von aktivierten Thrombozyten, wie in dieser Studie gezeigt, könnte das erhöhte Risiko für das Auftreten thromboembolischer Ereignisse bei Patienten mit inflammatorischer Kardiomyopathie erklären. Neben den rheologischen Veränderungen, die mit der Dilatation der Ventrikel assoziiert sind, liegt eine gesteigerte Plättchenreaktivität bei den Patienten mit Kardiomyopathie vor, die eine Entzündungsreaktion im Herzen aufweisen. Eine antithrombozytäre Therapie wäre bei diesen Patienten eventuell von Nutzen. Diesbezüglich sind weitere Studien geplant.

Studie II

Clopidogrel wird nach der Koronarintervention mit Stent-Implantation zur Reduktion akuter Stentthrombosen verabreicht. Einige Studien postulieren eine verminderte Wirkung von Clopidogrel bei gleichzeitiger Gabe eines Statins durch Wechselwirkungen am Cytochrom 450. Um festzustellen, ob Clopidogrel in Kombination mit Atorvastatin die Plättchenreaktivität ebenso hemmt wie die Monotherapie mit Clopidogrel, wurde die Plättchenreaktivität bei gesunden Probanden unter unterschiedlichen Therapien (Gruppe A: Monotherapie mit Clopidogrel; Gruppe B: Kombination von Clopidogrel und Atorvastatin) untersucht. Im Einklang mit anderen Studien, die eine Plättchenfunktionshemmung nach Therapie mit einem Statin zeigten [16], konnten auch

wir eine Reduktion der TRAP und - im Trend - der ADP induzierten Plättchendegranulation nach dreitägiger Monotherapie mit Atorvastatin feststellen. Die Plättchenreaktivität wurde sowohl durch die Gabe von Clopidogrel allein, als auch durch die Kombination von Atorvastatin und Clopidogrel reduziert (Abbildung 2 A, B).

Abbildung 2:



Die Kombinationstherapie mit Atorvastatin und Clopidogrel führte zu einer stärkeren Senkung der ADP-induzierten Plättchendegranulation als die Monotherapie mit Clopidogrel (Gruppe A: vor Clopidogrelgabe: $18,0 \pm 9,1$ AU versus 24 h nach Clopidogrelgabe $11,1 \pm 3,6$ AU, $p < 0,01$; Gruppe B: vor Clopidogrelgabe: $14,6 \pm 5,4$ versus 4 h $10,6 \pm 3,6$ AU, $p < 0,05$ bzw. 96 h nach Clopidogrelgabe $7,8 \pm 2,4$ AU; Gruppe A versus Gruppe B: $12,4 \pm 8,1$ AU vs. $7,8 \pm 2,4$ AU, $p < 0,05$). Die Thrombozytenagglutination im Vollblut wurde sowohl durch Clopidogrel allein als auch durch die Kombination von Clopidogrel mit Atorvastatin signifikant gesenkt (Gruppe A: vor vs. 96 h nach Clopidogrel: $217,5 \pm 49,4$ PAU vs. $181,3 \pm 39,1$ PAU, $p < 0,005$;

Gruppe B: vor Atorvastatin vs. nach Clopidogrelgabe: $214,8 \pm 45,6$ vs. $174,4 \pm 38,0$ PAU, $p < 0,05$). Unterschiede zwischen den Gruppen lagen nicht vor (Gruppe A vs. Gruppe B: $18,0 \pm 9,1$ AU vs. $18,9 \pm 8,0$ AU, ns.). Bei den Patienten mit KHK wurde ebenfalls eine Reduktion der Plättchendegranulation und der Plättchenagglutination bei gleichzeitiger Atorvastatinadministration beobachtet (vor vs. 96 h nach Clopidogrelgabe: $19,4 \pm 7,6$ vs $9,9 \pm 4,0$ AU, $p < 0,001$ bzw. $198,4 \pm 34,1$ vs. $163,4 \pm 38,7$ PAU, $p < 0,005$). (Abbildung 2 C).

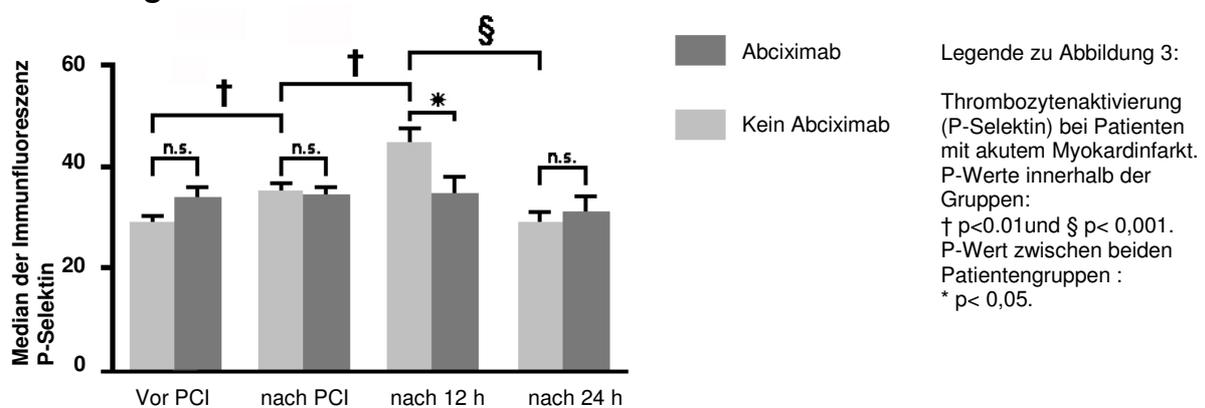
Diese Daten verdeutlichen, dass die Kombinationsbehandlung mit Atorvastatin und Clopidogrel zu einer Reduktion der Plättchenreaktivität führen. Die Thrombozyten sind unter der Kombinationstherapie mindestens genauso effektiv gehemmt wie unter alleiniger Clopidogreltherapie. Wir zeigten auch, dass eine Monotherapie mit Atorvastatin die Agonist-induzierte Plättchendegranulation reduziert. Wenn mögliche Interaktionen zwischen Clopidogrel und Atorvastatin betrachtet werden, muss berücksichtigt werden, dass die Plättchenfunktion schon durch Statine gehemmt sein könnte.

Studie III

Patienten mit akutem Myokardinfarkt werden zur Reduktion von akuten Koronarthrombosen periinterventionell mit GP IIb/IIIa Inhibitoren, welche die Thrombozytenaggregation hemmen, therapiert. Trotz der Aggregationshemmung treten besonders nach Absetzen der Therapie mit GP IIb/IIIa Inhibitoren vermehrt thrombotische Komplikationen auf. Um zu klären, ob die während der Akutintervention verabreichten GP IIb/IIIa Inhibitoren die Thrombozytenaktivierung beeinflussen, wurde Blut von Infarktpatienten, die während der Intervention mit Abciximab behandelt wurden, untersucht. Infarktpatienten, welche eine Intervention erhielten, jedoch ohne GP IIb/IIIa Inhibitoren therapiert wurden, dienten als Kontrollen. Wir zeigten eine signifikante Verringerung der Aggregationsfähigkeit der Thrombozyten nach Beginn und bis zu 12 h nach Beendigung der Abciximab-Therapie im Vergleich zu den Kontrollen. Trotz der unter Therapie mit Abciximab deutlichen Reduktion der Thrombozytenaggregationsfähigkeit war ein signifikanter Anstieg der Thrombozytendegranulation und -aktivierung zu verzeichnen. Die höchste Thrombozytenaktivierung war direkt nach Beendigung der Infusionstherapie mit Abciximab zu beobachten. Das Ausgangsniveau der in vivo Thrombozytenaktivierung war erst wieder 12 Stunden nach Beendigung der Abciximab-Therapie erreicht. Dies ist

am ehesten auf ein Verbrauch von aktivierten Thrombozyten zurückzuführen (Abbildung 3). Unsere Daten zeigen, dass auch nach der durch GP IIb/IIIa Inhibitoren bedingten Thrombozytenaggregationshemmung eine Plättchenaktivierung mit Freisetzung von Granulainhaltsstoffen erfolgte. Die gesteigerte in vivo Thrombozytendegranulation und -aktivierung könnte den mit dem Gebrauch von GP IIb/IIIa Inhibitoren assoziierten Rebound-Effekt erklären. Patienten erscheinen gerade nach Absetzen der IIb/IIIa-Antagonisten eine sehr hohe Thrombozytenaktivierung und ein hohes Risiko thrombotischer Komplikationen aufzuweisen. Engmaschige Kontrollen und eine effektive Heparinisierung sind notwendig, um die Gefahr eines Rebounds zu senken [13].

Abbildung 3:



Zusammenfassend weisen unsere Studien auf die Bedeutung der antithrombozytären Therapie in der Kardiologie hin. Dies wird zum einen bei Patienten mit einer Kardiomyopathie deutlich, bei denen sich eine zum gesunden Kontrollkollektiv deutlich erhöhte Plättchenaktivierung nachweisen lässt. Die Thrombozytenaktivierung ist dabei mit dem Vorhandensein von inflammatorischen Prozessen innerhalb des Myokards assoziiert und könnte eine Ursache der bei diesen Patienten deutlich erhöhten Thromboembolierate sein. Weitere Studien zu einer standardisierten thrombozytenhemmenden Therapie wären hier sinnvoll.

Besonders Patienten mit KHK profitieren von einer Therapie mit antithrombozytären Medikamenten wie ADP-Rezeptorantagonisten. Eine Reduktion der Plättchendegranulation erfolgt dabei sowohl unter einer Monotherapie mit Clopidogrel als auch unter Kombination von Statinen und Clopidogrel. Die in einigen Studien beschriebenen Interaktionen zwischen Atorvastatin und Clopidogrel in der

Verstoffwechslung am Cytochrom P450 resultieren nicht in einer gestörten Plättchenhemmung.

Einen deutlichen klinischen Nutzen von der frühzeitigen Gabe von GPIIb/IIIa-Antagonisten weisen Patienten mit akutem Myokardinfarkt auf. Unter der Therapie mit Abciximab lässt sich eine vermehrte Plättchendegranulation und Thrombozytenaktivierung nachweisen. Die aktivierten Thrombozyten tragen nach Beendigung der Therapie zur erhöhten Thrombogenität des Blutes und einem erhöhten Heparinbedarf bei. Eine nach Absetzen des GP IIb/IIIa Inhibitors erhöhte Thrombozytendegranulation begründet die Notwendigkeit einer weiteren engmaschigen Überwachung dieser Patienten.

Literatur:

- 1 Fuster V, Gersh B, Giuliani ER, Tajik AJ, Brandenburg RO, Frye RL: The natural history of idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 1981;47:525-531.
- 2 Weikert U, Rauch U, Kühl U et al. Increased thrombocyte activation in dilated cardiomyopathy: a risk factor for development of ventricular thrombosis despite anticoagulant therapy? *Z Kardiol* 2002;91(5):423-9.
- 3 Weidinger F, Glogar D, Sochor H, Sinzinger H: Platelet survival in patients with dilated cardiomyopathy. *Thromb Haemost* 1991;66(4):400-405.
- 4 Tan P, Luscinskas FW, Homer-Vanniasinkam S: Cellular and Molecular Mechanisms of Inflammation and Thrombosis. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1999;17:373-389.
- 5 Gawaz M, Fateh-Moghadam S, Pilz G, Gurland HJ, Werdan K: Platelet activation and interaction with leukocytes in patients with sepsis or multiple organ failure. *Eur J Clin Invest* 1995;25:843-851.
- 6 Tschoepe D, Schultheiss HP, Kolarov P, Schwippert B, Dannehl K, Nieuwenhuis HK et al.: Platelet membrane activation markers are predictive for increased risk of acute ischemic events after PTCA. *Circulation* 1993;88:37-42.
- 7 Rauch U, Osende FI, Fuster V et al. Thrombus formation on atherosclerotic plaques: pathogenesis and clinical consequences. *Ann Intern Med.* 2001;134:224-38. Review.
- 8 Jaster M, Schwimbeck P, Spencker S, Schultheiss HP, Rauch U. Randomized comparison of platelet-leukocyte aggregates and platelet activation in blood: heparin-coated coiled wire stent implantation versus balloon angioplasty in acute myocardial infarction. *Thromb Res.* 2003;112(5-6):285-9.
- 9 CAPRIE Steering Committee. A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). *Lancet* 1996;348:1329-39
- 10 The EPISTENT Investigators. Evaluation of Platelet IIb/IIIa Inhibitor for Stenting. Randomised placebo-controlled and balloon-angioplasty-controlled trial to assess safety of coronary stenting with use of platelet glycoprotein-IIb/IIIa blockade. *Lancet* 1998;352:87-92.

- ¹¹ Lau WC, Waskell LA, Watkins PB, et al. Atorvastatin reduces the ability of clopidogrel to inhibit platelet aggregation. A new drug-drug interaction. *Circulation* 2003;107:32-7.
- ¹² Rauch U, Osende JI, Chesebro JH et al. Statins and cardiovascular diseases: the multiple effects of lipid-lowering therapy by statins. *Atherosclerosis* 2000;153(1): 181-9.
- ¹³ Osende JI, Fuster V, Lev EI, Shimbo D, Rauch U, Marmur JD, Richard M, Varon D, Badimon JJ. Testing platelet activation with a shear-dependent platelet function test versus aggregation-based tests: relevance for monitoring long term glycoprotein IIb/IIIa inhibition. *Circulation* 2001;103(11):1488-91.
- ¹⁴ Kühl U, Noutsias M, Seeberg B, Schultheiss HP: Immunohistological evidence for a chronic intramyocardial inflammatory process in dilated cardiomyopathy. *Heart* 1996;75:295-300.
- ¹⁵ Kühl U, Noutsias M, Seeberg B, Schannwell M, Welp LB, Schultheiss HP. Chronic inflammation in the Myocardium of patients with clinically suspected dilated cardiomyopathy. *J Cardiac Failure* 1994;1:13-25.
- ¹⁶ Hussein O, Rosenblat M, Schlezinger S, et al. Reduced platelet aggregation after fluvastatin therapy is associated with altered platelet lipid composition and drug binding to the platelets. *Br J Clin Pharmacol* 1997;44:77-83.

Für diese Publikationspromotion verwendete Originalarbeiten:

Publikation 1: **Weikert U**, Kühl U., Schultheiss HP, Rauch U.

Platelet activation is increased in patients with cardiomyopathy: myocardial inflammation and platelet reactivity. *Platelets* 2002; 13: 487-91.

Publikation 2: Piorkowski M, **Weikert U**, Schwimbeck PL, Martus P, Schultheiss HP, Rauch U.

ADP induced platelet degranulation in healthy individuals is reduced by Clopidogrel after pretreatment with Atorvastatin. *Thromb Haemost* 2004; 92: 614-20.

Publikation 3: Piorkowski M, Priess J, **Weikert U**, Jaster M, Schwimbeck PL, Schultheiss HP, Rauch U.

Abciximab therapy is associated with increased platelet activation and decreased heparin dosage in patients with acute myocardial infarction. *Thromb Haemost* 2005; 94: 422-6.

Erklärung über den Anteil an den Publikationen:

Der Promovend, Ulf Weikert, hatte folgenden Anteil an den eingereichten Publikationen:

Publikation 1: **Weikert U**, Kühl U., Schultheiss HP, Rauch U.

Platelet activation is increased in patients with cardiomyopathy: myocardial inflammation and platelet reactivity. Platelets 2002; 13: 487-91.

(insgesamte Beteiligung 80 %)

Beitrag im Einzelnen: Patientenselektion, praktische Durchführung der klinischen-experimentellen Arbeit (insb. Durchflußzytometrie), statistische Arbeit, Schreiben der Publikation.

Publikation 2: Piorkowski M, **Weikert U**, Schwimbeck PL, Martus P, Schultheiss HP, Rauch U.

ADP induced platelet degranulation in healthy individuals is reduced by Clopidogrel after pretreatment with Atorvastatin. Thromb Haemost 2004; 92: 614-20.

(insgesamte Beteiligung 40 %)

Beitrag im Einzelnen: Patientenselektion, klinische Untersuchung der Patienten, praktische Durchführung der klinischen-experimentellen Arbeit (insb. Durchflußzytometrie, Thrombozytenaggregabilität) bei einem Teil der Patienten, digitale Verarbeitung der Daten.

Publikation 3: Piorkowski M, Priess J, **Weikert U**, Jaster M, Schwimbeck PL, Schultheiss HP, Rauch U.

Abciximab therapy is associated with increased platelet activation and decreased heparin dosage in patients with acute myocardial infarction. Thromb Haemost 2005; 94: 422-6.

(insgesamte Beteiligung 30 %)

Beitrag im Einzelnen: Patientenselektion, klinische Untersuchung der Patienten, praktische Durchführung der klinischen-experimentellen Arbeit (insb. Durchflußzytometrie, Thrombozytenaggregabilität) bei einem Teil der Patienten, digitale Verarbeitung der Daten.

13.11.2007

Betreuende Hochschullehrerin

Doktorand

Erklärung

Ich, Ulf Weikert, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Die Bedeutung der Thrombozytenaktivierung in der Pathogenese und Behandlung kardiologischer Erkrankungen“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

13.11.2007

Ulf Weikert

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

Publikationsliste:

Weikert U, Rauch U, Kuhl U, Hohmann C, Jaster M, Pauschinger M, Schwimmbeck PL, Schultheiss HP. Increased thrombocyte activation in dilated cardiomyopathy: a risk factor for development of ventricular thrombosis despite anticoagulant therapy? *Z Kardiol* 2002; 91(5):423-9.

Weikert U, Kuhl U, Schultheiss HP, Rauch U. Platelet activation is increased in patients with cardiomyopathy: myocardial inflammation and platelet reactivity. *Platelets* 2002;13(8):487-91.

Dorenkamp M, Weikert U, Meyer R, Schwimmbeck PL, Morguet AJ. Heart failure in acute febrile neutrophilic dermatosis. *Lancet* 2003;362(9393):1374.

Piorkowski M, Weikert U, Schwimmbeck PL, Martus P, Schultheiss HP, Rauch U. ADP induced platelet degranulation in healthy individuals is reduced by Clopidogrel after pretreatment with Atorvastatin. *Thromb Haemost* 2004; 92: 614-20

Piorkowski M, Priess J, Weikert U, Jaster M, Schwimmbeck PL, Schultheiss HP, Rauch U. Abciximab therapy is associated with increased platelet activation and decreased heparin dosage in patients with acute myocardial infarction. *Thromb Haemost* 2005; 94: 422-6.

Danksagung:

Ich danke Herrn Prof. Dr. Schultheiss und Frau Prof. Dr. Ursula Rauch für die Möglichkeit, in der Charité´ am Campus Benjamin Franklin die Arbeiten durchzuführen und die Publikationen anzufertigen. Besonders möchte ich mich bei Frau Prof. Dr. Ursula Rauch für die sehr gute und freundschaftliche Betreuung der klinisch-experimentellen Arbeiten bedanken. Ich möchte mich auch bei den vielen Mitarbeitern des Labors für die kollegiale und gute Arbeitsatmosphäre und für die vielen Ratschläge und Tipps bedanken.

Mein Dank gilt allen Freunden, die mich beim Entstehen dieser Arbeit unterstützt haben. Meiner Frau, meiner Schwester und im Besonderen meinen Eltern danke ich für die Unterstützung, Ermutigungen und die vielen kleinen „antreibenden“ Gesten.

Weikert U, Kuhl U, Schultheiss HP, Rauch U. Platelet activation is increased in patients with cardiomyopathy: myocardial inflammation and platelet reactivity. *Platelets* 2002;13(8):487-91.

Piorkowski M, Weikert U, Schwimmbeck PL, Martus P, Schultheiss HP, Rauch U.
ADP induced platelet degranulation in healthy individuals is reduced by Clopidogrel
after pretreatment with Atorvastatin. *Thromb Haemost* 2004; 92: 614-20.

Piorkowski M, Priess J, Weikert U, Jaster M, Schwimbeck PL, Schultheiss HP, Rauch U. Abciximab therapy is associated with increased platelet activation and decreased heparin dosage in patients with acute myocardial infarction. *Thromb Haemost* 2005; 94: 422-6.