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

DISSERTATION

Anhaltend erhöhte residuelle Thrombozytenreaktivität nach koronarer Stentimplantation bei Patienten mit Myokardinfarkt im Vergleich mit elektiven Patienten

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Matthias Fischer
aus Bad Säckingen

Gutachter/in: 1. Prof. Dr. med. G. Baumann
2. Prof. Dr. med. U. Rauch-Kröhnert
3. Priv. Doz. Dr. med. D. Sibbing

Datum der Promotion: 23.06.2013

Teile der vorliegenden Arbeit wurden vorab veröffentlicht:

Till F. Althoff, Matthias Fischer, Elisabeth Langer, Sabine Ziemer, Gert Baumann: Sustained enhancement of residual platelet reactivity after coronary stenting in patients with myocardial infarction compared to elective patients.
Thrombosis Research, 125 (5), 2010: 190-196

Diese Arbeit ist Pauline Barbara gewidmet.

Inhaltsverzeichnis

1 EINLEITUNG 1
1.1 Einführung in die Thematik 1
1.2 Physiologie der Thrombozyten 3
1.2.1 Primäre Hämostase 3
1.2.2 Thrombozytenaggregation 4
1.2.3 Signalwege der Thrombozytenaktivierung 4
1.2.3.1 ADP 4
1.2.3.2 P_2Y_1 4
1.2.3.3 P_2Y_{12} 5
1.2.3.4 Thromboxan A_2 6
1.2.3.5 Thrombin 7
1.2.3.6 Andere Thrombozytenaktivatoren 8
1.3 Die Rolle der Thrombozyten in der Pathophysiologie der Atherosklerose und des akuten Koronarsyndroms 8
1.4 Antithrombozytäre Substanzen 9
1.4.1 Cyclooxygenase-Hemmer (z.B. Acetylsalicylsäure) 10
1.4.2 Glykoprotein-IIb/IIIa-Antagonisten 11
1.4.3 Thienopyridine 12
1.4.4 Ticagrelor 14
1.4.5 Residuelle Thrombozytenreaktivität 14
1.5 Fragestellung 15

2 PATIENTEN, MATERIAL UND METHODEN 17
2.1 Auswahl der Patienten 17
2.2 Hauptversuch: Thrombozytenfunktionsuntersuchungen 19
2.2.1 Blutentnahmen 19
2.2.2 Messzeitpunkte 19
2.2.3 Lichttransmissionsaggregometrie nach Born 20
2.2.4 Impedanzaggregometrie 22
2.2.5 Statistische Analyse 25
2.3 Methodenvergleich LTA und MEA 26

3 ERGEBNISSE 27
3.1 Patientencharakteristika 27
3.2 Hauptversuch: Thrombozytenfunktionstests 28
3.2.1 Residuelle Thrombozytenreaktivität 48 h nach Stentimplantation 28
3.2.1.1 Übersicht 28
3.2.1.2 ADP-induzierte Thrombozytenreaktivität nach 48 h 29
3.2.1.3 AA-induzierte Thrombozytenreaktivität nach 48 h 30
3.2.2 Residuelle Thrombozytenreaktivität 30 Tage nach Stentimplantation 30
3.2.2.1 Zeitpunkt der Verlaufskontrolle 30
3.2.2.2 ADP-induzierte Thromboztenreaktivität nach 30 Tagen 31
3.2.2.3 AA-induzierte Thrombozytenreaktivität nach 30 Tagen 32
3.2.3 Residuelle Thrombozytenreaktivität im Zeitverlauf 32
3.2.4 Prädiktoren der residuellen Thrombozytenreaktivität 35
3.2.5 Komplikationen 37
3.3 Vergleich der Methoden LTA und MEA 38
3.3.1 Korrelationen zwischen LTA und MEA, Spearman'scher Rangkorrelations–koeffizient 38
3.3.2 Cohens Kappa 39

4 DISKUSSION 40

5 ZUSAMMENFASSUNG 47

6 LITERATURVERZEICHNIS 48

7 ANHANG 65
7.1 Abkürzungen 65

1 Einleitung

1.1 Einführung in die Thematik

Kardiovaskuläre Erkrankungen zählen gegenwärtig zu den häufigsten Todesursachen in den westlichen Industrienationen, und in Deutschland belegen chronische ischämische Herzerkrankungen, akute Myokardinfarkte und die Herzinsuffizienz die ersten drei Plätze in der Todesfallstatistik [1].

Die koronare Herzerkrankung ist die Manifestation der Atherosklerose in den epikardialen Herzkranzgefäßen. Durch flusslimitierende Koronarstenosen kommt es zur Koronarinsuffizienz – einem Missverhältnis zwischen Sauerstoffbedarf und -angebot im Myokard. Die dadurch hervorgerufene Myokardischämie kann sich klinisch unterschiedlich darstellen, wie durch stabile Angina pectoris, akutes Koronarsyndrom, ischämische Kardiomyopathie, Herzrhythmusstörungen und dem plötzlichen Herztod.

Heute werden hämodynamisch relevante Stenosen überwiegend durch die perkutane transluminale Koronarangioplastie (PTCA) versorgt. In Deutschland erfolgt bei etwa 80 Prozent aller Koronarinterventionen eine Stentimplantation (Abbildung 1) [2; 3; 4].

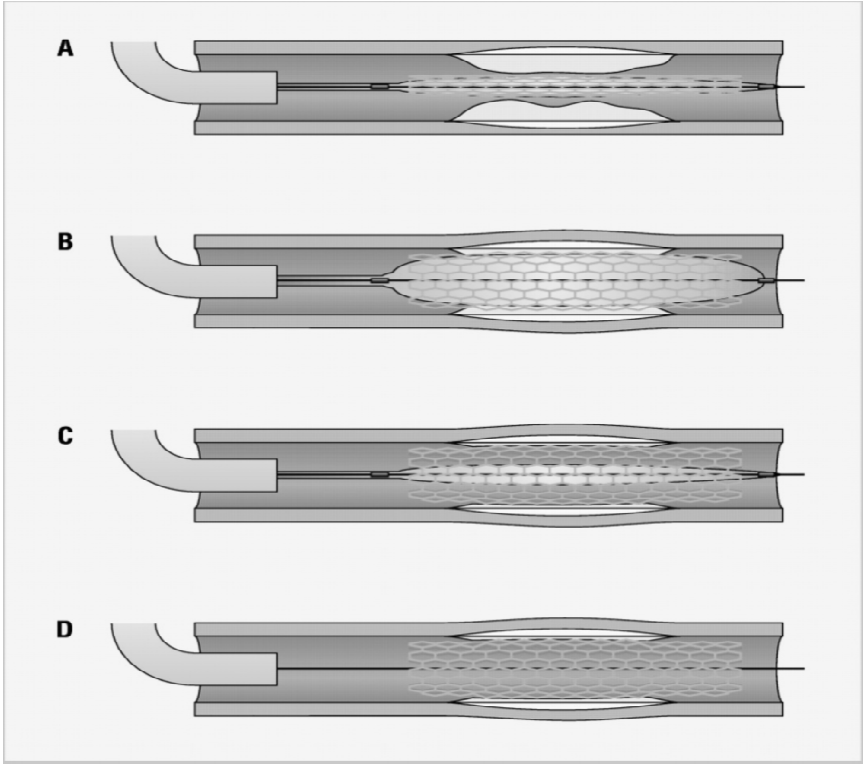

Abbildung 1: Schematische Darstellung der PTCA mit Stentimplantation
([5], mit freundlicher Genehmigung von Ever D. Grech)
A: Vorschieben des Führungsdrahts mit Stent über die Stenose
B: Ballondilatation und Angioplastie
C: Entfalten des Stents - Stentimplantation
D: Zurückführen des Führungsdrahtes

Eine der gefürchtetsten Komplikationen nach Stentimplantation ist eine Thrombosierung des Stents. In 80 Prozent der Fälle geht die Stentthrombose mit einem Myokardinfarkt einher, wobei insbesondere die späte Stentthrombose mit einer hohen Mortalität von bis zu 45% vergesellschaftet ist [6; 7].

Im Pathomechanismus der Entstehung einer Stentthrombose spielen aktivierte Thrombozyten eine Schlüsselrolle. Daher wird heute im Rahmen jeder PTCA mit Stentimplantation routinemäßig eine antithrombozytäre Therapie durchgeführt, um eine Stentthrombose zu verhindern.

Im Folgenden sollen zunächst die physiologischen Vorgänge bei der Thrombozytenaktivierung zusammenfassend dargestellt werden, bevor eine Übersicht über den aktuellen Kenntnisstand der antithrombozytären Therapie gegeben wird.

1.2 Physiologie der Thrombozyten

1.2.1 Primäre Hämostase

Die Thrombozyten werden im Knochenmark aus Megakaryozyten gebildet. Im inaktiven Zustand weisen sie eine typische diskoide Form mit einer durchschnittlichen Oberfläche von 8 µm² auf und sind damit die kleinsten korpuskulären Anteile im Vollblut. Die physiologische Thrombozytenzahl im peripheren Blut beträgt 150 000 bis 300 000 pro µl Blut. Thrombozyten besitzen keinen Zellkern („anukleäre Zellen“) und kaum RNA und sind damit nicht oder nur sehr eingeschränkt zur Proteinbiosynthese fähig. Die Überlebenszeit der Thrombozyten beträgt 7-10 Tage bei einer täglichen Erneuerungsrate von etwa 20%. Der Abbau der Thrombozyten erfolgt über Leber und Milz [8].

Das Hämostasesystem gewährleistet bei intakten Gefäßwänden durch Hemmung der Blutgerinnung einen kontinuierlichen Blutfluss und sorgt bei Läsionen der Gefäßwände für eine primäre Defektabdichtung beziehungsweise für eine Wiederherstellung der Gefäßwandintegrität. Hierbei besitzen Thrombozyten eine zentrale Funktion: Bei einer Läsion der Gefäßinnenwand wird das Subendothel mit Adhäsionsproteinen, wie beispielsweise Kollagen oder von-Willebrand-Faktor, freigelegt [9]. Thrombozyten haben spezifische Rezeptoren für die Adhäsionsproteine und lagern sich an diese an. Wenn sich der Thrombozyt dabei im ruhenden Zustand befindet, spricht man von der primären Adhäsion im Gegensatz zur sekundären Adhäsion von zuvor aktivierten Thrombozyten [10; 11]. Die Adhäsion führt zur Aktivierung des ruhenden Thrombozyten, d.h. dieser verändert seine Form („shape change") und bildet durch Ausstülpungen der Zellmembran Pseudopodien aus („spreading“), wodurch sich seine Oberfläche auf bis zu 13 µm² vergößert [11].

Zunächst sind die aktivierten und der Gefäßwandläsion anhaftenden Thrombozyten durch lockere Fibrinogenbrücken reversibel miteinander verbunden („primäre Aggregation“). Verzögert kommt es durch die Spaltung von Fibrinogen zu Fibrin zur irreversiblen Verbindung („sekundäre Aggregation“). Die Thrombozyten setzen nun gerinnungswirksame Substanzen frei („release“, Degranulation) [8], die einerseits den Aktivierungszustand verstärken und andererseits weitere Thrombozyten aus der Zirkulation rekrutieren [12].

1.2.2 Thrombozytenaggregation

Unter dem Begriff Thrombozytenaggregation versteht man die Kohäsion von zahlreichen Thrombozyten zu einem Thrombus innerhalb kurzer Zeit (Sekunden bis Minuten). Hierbei spielt der Glykoprotein (GP)-IIb/IIIa-Rezeptor eine zentrale Rolle. Der in die Thrombozytenoberfläche integrierte Glykoprotein-IIb/IIIa-Rezeptor stellt die Bindungsstelle des Fibrinogen dar. Im Rahmen der Thrombozytenaktivierung erfolgt eine Konformationsänderung dieses Glykoproteins, die eine Bindung von löslichem Fibrinogen und von Willebrand-Faktor (vWF) erlaubt. Die dimere Fibrinogenstruktur und die multimere vWF-Struktur ermöglichen eine Vernetzung der Thrombozyten zu Aggregaten [12; 13; 14; 15; 16]. Bei inaktivierten ruhenden Thrombozyten sind Bindungsaffinität und Signalwirkung des GPIIb/IIIa-Rezeptors sehr gering. Erst die Thrombozytenaktivierung induziert die Aktivierung des Rezeptors durch dessen rasche Konformationsänderung („Inside-out signaling“) [17; 18; 19].

1.2.3 Signalwege der Thrombozytenaktivierung

1.2.3.1 ADP

ADP wird in hohen Konzentrationen in den dichten Thrombozytengranula gespeichert und im Rahmen der Thrombozytenaktivierung freigesetzt. Es bindet sich als löslicher positiver Feedback-Mediator an die Rezeptoren auf der Thrombozytenoberfläche [20].

Die ADP-vermittelte Thrombozytenaktivierung wird durch zwei an G-Proteine gekoppelte purinerge Rezeptoren – P_2Y_1 und P_2Y_{12} – mediiert. G-Proteine werden über ihre alpha-Untereinheiten s, i, q, 11, 12 und 13 definiert und entsprechend in verschiedenen Gruppen eingeteilt (G_s, G_i, $G_{q/11}$ und $G_{12/13}$). Die Untereinheiten 11 und 12 sind in Thrombozyten nicht exprimiert.

1.2.3.2 P_2Y_1

P_2Y_1 koppelt an G_q-Proteine [21]. Die Stimulation des P_2Y_1 Rezeptors führt zu einer Gq vermittelten Aktivierung von Phospholipase C. Diese wiederum bewirkt via Bildung

von Inositriphosphat (IP_3) und Diacylglycerol eine Mobilisierung des intrazellulären Calciums bzw. eine Aktivierung der Proteinkinase C (PKC) (Abbildung 2). Dies sind Voraussetzungen für die Formveränderung und die primäre Aggregation der Thrombozyten [22]. Bei P_2Y_1-defizienten Mäusen finden keine Formveränderungen der Thrombozyten als ADP-Antwort statt und die ADP-induzierte Aggregation ist deutlich vermindert. In vivo weisen diese Mäuse eine leicht verlängerte Blutungszeit und eine relative Resistenz gegenüber Thromboembolien auf [23].

1.2.3.3 P_2Y_{12}

P_2Y_{12} induziert Signalwege, die überwiegend durch G-Proteine der Gruppe G_i - insbesondere G_{i2} – vermittelt werden. Die Stimulierung des P_2Y_{12}-Rezeptors führt so über eine Inhibition der Adenylat-Cyclase zu einer reduzierten cAMP-Konzentration und einer Regulierung verschiedener Enzyme wie beispielsweise der Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K). Diese aktiviert über die Bildung von Phosphatidylinositol-3,4,5-Triphosphat (PIP_3) eine Vielzahl nachgeordneter Effektoren [24]. Es resultiert eine Stabilisierung der Thrombozytenaggregate und eine weitere Ausschüttung von Mediatoren aus den Granula [20]. Bei P_2Y_{12}-defizienten Mäuse zeigen die Thrombozyten zwar nach Aktivierung die charakteristischen Formveränderungen, aber der Aggregationsvorgang ist gestört [25]. In vivo fallen diese Tiere durch deutlich verlängerte Blutungszeiten und die Bildung kleiner und unstabiler Thromben auf [26]. Beim Menschen induziert die Abwesenheit von P_2Y_{12} leichte Hämorrhagien [27].

Obwohl die Koaktivierung der beiden Rezeptoren P_2Y_1 und P_2Y_{12} für eine physiologische ADP-induzierte Thrombozytenaggregation erforderlich ist, nimmt man an, dass es sich bei P_2Y_{12} um den dominierenden Rezeptor handelt. Der P_2Y_{12}-Rezeptor stellt daher ein attraktives Ziel für antithrombotische Therapien dar [28; 29; 30]. Beispielsweise wird P_2Y_{12} irreversibel durch das Thienopyridin Clopidogrel gehemmt [31; 32].

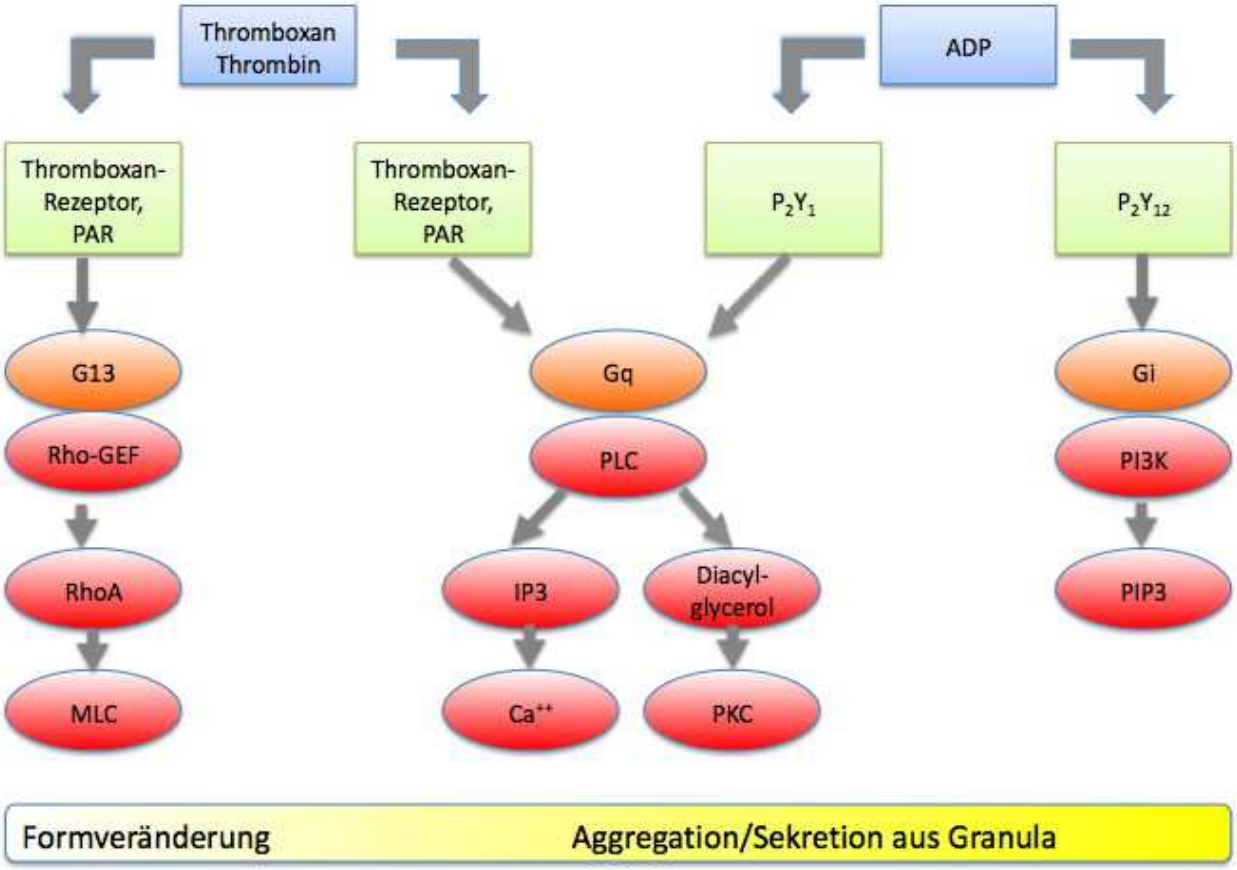

Abbildung 2: Signalwege, die durch G-Proteine in Thrombozyten induziert werden (Erläuterungen siehe Text)

PAR = Protease-aktivierter Rezeptor, Rho-GEF = Guanin-Nukleotid-Austauschfaktor der Rho-Kinase, PLF = Phospholipase C, PI3K = Phosphatidylinositol-3-Kinase, RhoA = A-Form der GTPase Rho, IP3 = Inosintriphosphat, PIP3 = Phosphatidylinositoltriphosphat, MLC = Myosin light chain, PKC = Proteinkinase C

1.2.3.4 Thromboxan A_2

Ähnlich wie ADP fungiert das Endoperoxid Thromboxan als positiver Feedback-Mediator während der Thrombozytenaktivierung: Durch die im Thrombozyten vorkommende Cyclooxygenase 1 (COX-1) wird Arachidonsäure zunächst in die zyklischen Prostaglandine PGG_2 und PGH_2 und nachfolgend mit Hilfe der Thromboxansynthase in Thromboxan A_2 umgewandelt. Das freigesetzte Thromboxan A_2 bindet an G_q- oder G_{13}-gekoppelte Rezeptoren. Die Aktivierung von G_q-gekoppelten Rezeptoren führt über die Aktivierung der Phospholipase C (PLC) zu Inosintriphosphat (IP3) und Diacylglycerol zur Freisetzung von intrazellulärem Calcium bzw. einer Aktivierung der Proteinkinase C

(PKC). Eine Aktivierung von G_{13}-gekoppelten Rezeptoren dagegen mediiert eine Aktivierung der kleinen GTPase RhoA und ist damit an der Regulierung der Myosin-Leicht-Ketten (MLC)-Phosphorylierung und folglich an der Induktion der Thrombozytenformveränderung beteiligt [8; 33].

Thromboxan A_2 wirkt, wie auch Serotonin und Epinephrin, autokrin verstärkend auf die Thrombozytenaktivierung und induziert somit die Aggregation weiterer Thrombozyten [34]. Es aktiviert Thrombozyten sowohl im Rahmen der physiologischen Hämostase als auch während der pathologischen Thrombusbildung [35]. Prostacyclin wirkt den Thromboxan-vermittelten Effekten entgegen. Sowohl die Konzentrationen an Thromboxan A_2 als auch an Prostacyclin sind bei Patienten mit einer instabilen Angina pectoris oder nach einem akuten Myokardinfarkt erhöht [36].

1.2.3.5 Thrombin

Thrombin stellt einen sehr effektiven Thrombozytenaktivator dar, der bereits in sehr geringen Konzentrationen wirksam ist [37; 38]. Seine Bildung auf den Oberflächen aktivierter Thrombozyten wird beispielsweise bei Schädigungen des Gefäßwandepithels initiiert. Die lokale Thrombinproduktion stellt einen Hauptmechanismus bei der Stimulierung der Blutgerinnung durch aktivierte Thrombozyten dar [39].

Die Thrombozytenaktivierung durch Thrombin erfolgt mit Hilfe von Protease-aktivierten Rezeptoren (PAR), die an G_q- oder G_{13}-Proteine gekoppelt sind [40; 41]. Beim Menschen wurden zwei Subtypen dieser Rezeptoren, PAR1 und PAR4, nachgewiesen: PAR1 vermittelt die Thrombozytenaktivierung bei geringen, PAR4 bei hohen Thrombinkonzentrationen [42; 43]. Als Folge der PAR1-Stimulierung kommt es u.a. zum Kalziumeinstrom in die Zelle, und über eine Aktivierung der GPIIb/IIIA-Rezeptoren zur Potenzierung der Aggregation sowie zur Verstärkung der prokoagulatorischen Aktivität [44].

1.2.3.6 Andere Thrombozytenaktivatoren

Über die genannten Agonisten hinaus, gibt es zahlreiche weitere, jedoch deutlich weniger potente Thrombozyten-Aktivatoren (u.a. Epinephrin, Prostaglandin E und Serotonin), auf die hier nicht näher eingegangen werden soll [33].

1.3 Die Rolle der Thrombozyten in der Pathophysiologie der Atherosklerose und des akuten Koronarsyndroms

Neben entzündungsvermittelnden Zellen wie Monozyten sind auch Thrombozyten ursächlich an der Entstehung, Entwicklung und Ausdehnung der Atherosklerose beteiligt [8; 45; 46; 47]. Sie treten mit anderen Zellen (neutrophile Granulozyten, Monozyten, Endothelzellen und endotheliale Vorläuferzellen) in Wechselwirkung und induzieren die Freisetzung chemotaktischer und inflammatorischer Zytokine sowie solcher Mediatoren, die proteolytisch wirken, die Adhäsion begünstigen oder eine Thrombosierung fördern [48]. Auch sind sie in der Lage, Phospholipide des verletzten Gefäßendothels aufzunehmen und die Transformation von Makrophagen zu Schaumzellen zu begünstigen. Außerdem exprimieren Thrombozyten spezifische LDL-Rezeptoren. Mit LDL beladene Thrombozyten werden dann von an der Gefäßwand adhärierenden Monozyten aufgenommen, welche sich anschließend zu Makrophagen und im weiteren Verlauf zu Schaumzellen differenzieren [45; 49].

Durch akute Veränderungen im atherosklerotischen Blutgefäß – wie beispielsweise Risse oder Plaquerupturen – wird das hoch thrombogene Subendothel freigelegt und ist für zirkulierende Thrombozyten zugänglich, die die Gerinnungskaskade in Gang setzen. Die resultierende Plättchenadhäsion und –aggregation im Bereich der Plaqueruptur kann zu einer transienten Thrombose oder zu einer unvollständigen Koronararterienokklusion mit dynamischer Vasokonstriktion führen. Die aktivierten Thrombozyten setzen Mediatoren der Vasokonstriktion und Thrombozytenaggregation frei wie beispielsweise Thromboxan und ADP [50]. Auch aktiviertes Thrombin, freie Radikale, Tissue Factor und Endothel akkumulieren Thrombozyten in der Region der Plaqueruptur und begünstigen die prothrombotische Konstellation [51; 52; 53; 54]. Die schließlich einsetzende intravasale Thrombosierung kann zum akuten Gefäßverschluss und somit einem akuten Koronarsyndrom führen [50].

1.4 Antithrombozytäre Substanzen

In der Vergangenheit wurden verschiedene Substanzen entwickelt, die mit dem Ziel der pharmakologischen Therapie der Atherosklerose und der Prophylaxe arterieller Thrombosen die Thrombozytenfunktion durch unterschiedliche Mechanismen hemmen. Entsprechend dem heutigen Kenntnisstand lassen sich nach dem pharmakologischen Wirkprinzip folgende Substanzklassen unterscheiden: Cyclooxygenase-Hemmer, GP-IIb/IIIa-Antagonisten sowie Thienopyridine und ATP-Analoga.

Der Wirkmechanismus der GP-IIb/IIIa-Antagonisten sowie der ADP-Inhibitoren ist in Abbildung 3 schematisch dargestellt.

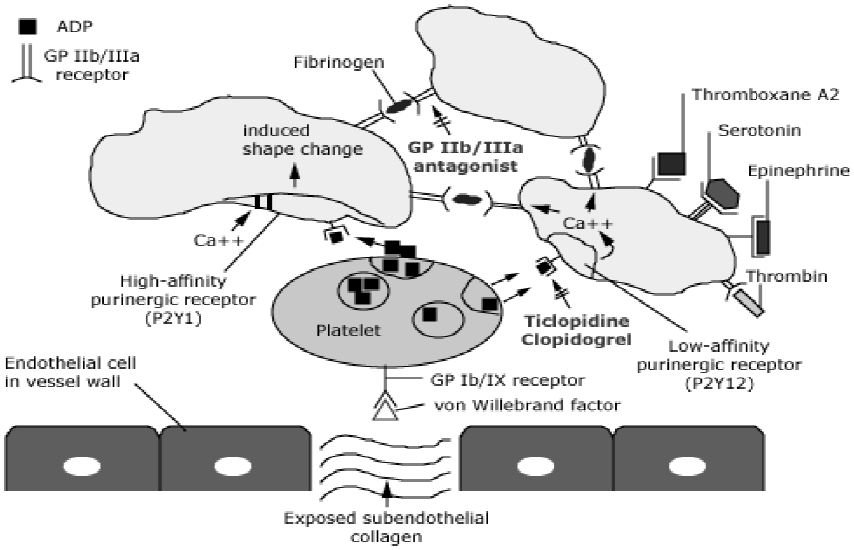

Abbildung 3: Schematische Darstellung des Wirkmechanismus antithrombozytärer Substanzen ([55], mit freundlicher Genehmigung von Peter J. Sharis)

Bei Kontakt mit verändertem Gefäßendothel binden Thrombozyten über den Glykoprotein-Rezeptor-Ib/IX mit dem von-Willebrand-Faktor. Die am Endothel adhärenten Thrombozyten werden aktiviert. Es kommt zum „shape change und damit zur Degranulation von ADP und einiger weiterer Substanzen wie Serotonin, Epinephrin und Thromboxan A_2, welche eine Rolle bei der weiteren Aktivierung und Aggregation spielen. ADP bindet an zwei Subtypen des P_2Y-Rezeptors, den weniger affinen purinergen P_2Y_{12}-Rezeptor und den hochaffinen purinergen P_2Y_1-Rezeptor. Thienopyridine blockieren die Bindung von ADP an den P_2Y_1-Rezeptor und verhindern so die Aktivierung des GP-IIb/IIIa-Rezeptorenkomplexes und in Folge dessen die Aggregation weiterer Thrombozyten. Die GPIIb/IIIa-Rezeptorantagonisten verhindern die Aggregation, indem sie die Bindung an Fibrinogen inhibieren und dadurch einer Vernetzung der Thrombozyten entgegenwirken.

1.4.1 Cyclooxygenase-Hemmer (z.B. Acetylsalicylsäure)

Das im Thrombozyten vorkommende Enzym Cyclooxygenase 1 (COX-1) mediiert die Umwandlung von Arachidonsäure über PGG_2 und PGH_2 in den Thrombozytenaktivator Thromboxan A_2 [34]. Das bekannteste Beispiel für einen COX-1-Inhibitor ist die Acetylsalicylsäure (ASS). Acetylsalicylsäure wurde erstmals 1887 durch den deutschen Chemiker Dr. Felix Hoffmann synthetisiert, und im Jahr 1954 beschrieb Bounameaux ihre Wirkung auf die Thrombozyten. Man erkannte jedoch erst 1971, dass die antithrombozytäre Wirkung von ASS auf der irreversiblen Hemmung der thrombozytären Cyclooxygenase COX-1 beruht [56]. Da die kernlosen Thrombozyten nicht zur Proteinbiosynthese in der Lage sind, kann die irreversible Hemmung der Cyclooxygenase nicht durch Neusynthese ausgeglichen werden, und die Thrombozyten können für die Zeit ihrer Lebensdauer von etwa 7 Tagen kein Thromboxan A_2 mehr produzieren [8].

Der Einsatz von ASS gilt als Goldstandard in der Therapie und Prophylaxe atherothrombotischer Krankheitsbilder. Da mit steigender Dosierung die unerwünschten Nebenwirkungen in Form von gastrointestinalen Komplikationen zunehmen, empfiehlt die American Heart Association eine Tagesdosis von 75 mg bis maximal 325 mg. Das Risiko, unter Dauertherapie mit ASS eine schwerwiegende intrazerebrale Blutung zu erleiden, liegt bei unter 0,5% [57; 58].

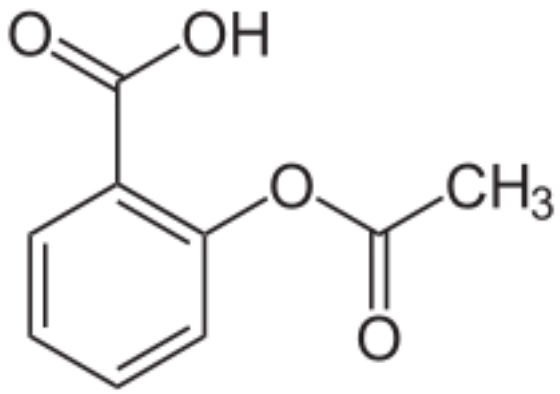

Abbildung 4: Strukturformel Acetylsalicylsäure

1.4.2 Glykoprotein-IIb/IIIa-Antagonisten

GP-IIb/IIIa-Antagonisten binden an den Glykoprotein-IIb/IIIa-Rezeptor. Sie verhindern unabhängig von einem Aktivierungsreiz die Bindung von Fibrinogen und folglich die Bildung eines stabilen Thrombus.

In Deutschland sind drei Gruppen von GP-IIb/IIIa-Antagonisten zugelassen, die über ein identisches Wirkprinzip aber über unterschiedliche strukturelle und pharmakologische Eigenschaften verfügen:

1. monoklonale Antikörper: Abciximab
2. zyklische Peptide: Eptifibatid
3. Nichtpeptide (Fibane): Tirofiban

Im Jahr 1985 entwickelte Coller einen murinen monoklonalen Antikörper gegen den Glykoprotein-IIb/IIIa-Rezeptor [59]. Dieser Antikörper, genannt Abxicimab oder 7E3, hat ein Molekulargewicht von 47,6 kD und verfügt über eine hohe Affinität sowie eine absolute Spezifität für den Glykoprotein-IIb/IIIa-Rezeptor [60]. Die Bindungsaffinität zeigt Abciximab sowohl bei dem aktivierten als auch dem inaktivierten Rezeptor. Ungebundenes Abciximab wird nur zu einem geringen Teil renal ausgeschieden. Gebunden an zirkulierende Thrombozyten ist es mindestens 21 Tage nachweisbar [61].

Bei Eptifibatid und Tirofiban handelt es sich im Gegensatz zu Abciximab um kleinmolekulare Substanzen mit einem Molekulargewicht unter 1 kD, die zu 50% und mehr renal ausgeschieden werden [62; 63]. Beide Substanzen haben eine exklusive Spezifität für den Glykoprotein-IIb/IIIa-Rezeptor – Eptifibatid bindet an die Alphakette und Tirofiban an die Gammakette –, aber eine geringere Bindungsaffinität und eine kürzere biologische Wirksamkeit nach der Applikation als Abciximab, da kompetitive Hemmungen durch andere kleine Moleküle auftreten.

Durch seine langsame Dissoziation ergibt sich ein signifikanter Vorteil von Abciximab im Vergleich mit den schnell abbaubaren kleinmolekularen Substanzen. Jedoch werden auf der Basis zahlreicher klinischer Studien [64; 65; 66; 67; 68; 69; 70] alle drei Substanzen für die antithrombozytäre Therapie im Rahmen der PTCA durch die Fach–gesellschaften empfohlen [71], da insbesondere ein rascher Wirkungseintritt und das frühzeitige Erreichen des maximalen Hemmeffekts für die klinische Wirkung von größerer Bedeutung sein kann als die Aufrechterhaltung des Effekts über die folgenden Tage.

Alle drei Substanzen werden bei perkutanen Koronarinterventionen periinterventionell intravenös infundiert. Häufigste Komplikationen sind Blutungen und antigene Eigenschaften [72].

1.4.3 Thienopyridine

Thienopyridine hemmen die ADP-induzierte Thrombozytenaktivierung, indem sie selektiv und irreversibel die Bindung von ADP an den P_2Y_{12}-Rezeptor verhindern und in Folge dessen die Aktivierung des Glykoprotein-IIb/IIIa-Rezeptors inhibieren [8; 73]. Als „prodrugs" zeigen die Thienopyridine in vitro keine Wirkung. Sie werden erst in der Leber in ihre Metaboliten transformiert, welche die typische antithrombozytäre Wirksamkeit entfalten.

Das erste Thienopyridin, das im Zusammenhang mit der PTCA eingesetzt wurde, war Ticlopidin. Es entfaltet seine Wirksamkeit dosisabhängig. Bei einer Gabe von 500 mg/Tag setzt die antithrombozytäre Wirkung nach zwei Tagen ein, und sie erreicht ihr Maximum nach fünf bis sieben Tagen. Die Verwendung höherer Dosierungen, um die Zeitspanne bis zum maximalen Wirkungseintritt zu verkürzen, wird durch eine schlechte Verträglichkeit limitiert: Bei 30-50% der Patienten kommt es zu Übelkeit, Erbrechen und Diarrhoe. Auch Hautausschläge treten häufig auf. Bei 2% der Patienten wurde eine Neutropenie beobachtet sowie gelegentlich eine lebensbedrohende thombotisch thrombozytopenische Purpura [8; 74]. Wegen dieser Nebenwirkungen wird Ticlopidin heute nur noch in Ausnahmefällen eingesetzt [75].

Das antithrombozytäre Standardtherapeutikum unter den Thienopyridinen stellt heute Clopidogrel dar. Der wirksame Metabolit, ein Thiolderivat, wird in der Leber durch Cytochrom P 450 3A4 gebildet [76; 77]. In Vergleichsstudien zu Clopidogrel und Ticlopidin ergaben sich hinsichtlich der Wirksamkeit und der Nebenwirkungsrate Vorteile für Clopidogrel [78; 79; 80; 81; 82].

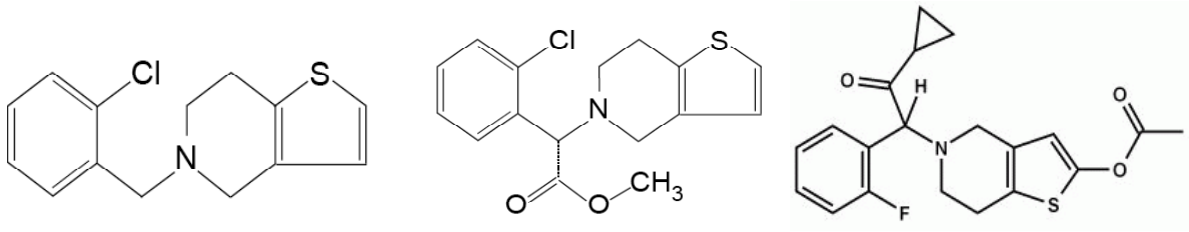

Abbildung 5: Strukturformeln von Ticlopidin (links), Clopidogrel (Mitte) und Prasugrel (rechts) (www.drugbank.ca, [8. Mai 2011])

Um einen raschen Wirkungseintritt des Clopidogrel zu erzielen, wird eine einmalige hohe Anfangsdosierung empfohlen. Allerdings existieren bis heute keine evidenzbasierten Nachweise, ob eine Aufsättigungsdosis („loading dose“) von 300 mg oder 600 mg vorteilhafter ist [71; 83].

Alternativ zu Clopidogrel wird ein weiteres Thienopyridin – Prasugrel – verwendet. Prasugrel hemmt die Thrombozytenaggregation noch wirksamer als Clopidogrel und in der führenden Vergleichsstudie TRITON-TIMI 38 war das relative Risiko des primären Endpunktes (Summe der Todesfälle wegen kardiovaskulärer Ursachen, nicht tödlichem Myokardinfarkt, nicht tödlichem Schlaganfall) unter Prasugrel um 19% geringer als unter Clopidogrel. Allerdings wurden in Zusammenhang mit Prasugrel auch signifikant höhere Blutungsraten – einschließlich schwerer Blutungen („major bleeding“ nach der TIMI-Klassifikation) – beobachtet [84].

Die aktuellen Therapieempfehlungen der Fachgesellschaften weisen explizit darauf hin, dass nach heutigem Kenntnisstand kein Thienophyridin dem anderen überlegen sei. Den scheinbaren therapeutischen Vorteilen von Prasugrel steht ein größeres Blutungsisiko gegenüber [71]. Darüber hinaus fehlen ausreichende Informationen darüber, auf welche Weise man Patienten selektieren könnte, für die sich ein eindeutiger Vorteil der Behandlung mit Prasugrel ergäbe. Nicht zuletzt liegen hierfür bis dato auch nicht genügend praktische Erfahrungen vor.

Als Standardtherapie im Rahmen einer PTCA mit/ohne Stentimplantation wird aktuell Clopidogrel in Kombination mit Acetylsalicylsäure („duale antithrombozytäre Therapie“) verwendet, um Stentthrombosen oder kardiovaskulären Komplikationen vorzubeugen. [3; 71; 85; 86; 87].

1.4.4 Ticagrelor

Durch die irreversible Bindung an den P_2Y_{12}-Rezeptor ist die Therapie mit Thienopyridinen schwer steuerbar. Daher ist es das Ziel aktueller Forschung, neue Substanzen zu entwickeln, die ein günstigeres pharmakodynamisches Profil aufweisen. Viel versprechende erste Ergebnisse wurden dabei mit dem ATP-Analogon Ticagrelor erzielt. Es handelt sich um den ersten reversiblen P_2Y_{12}-Rezeptorantagonisten, der nicht-kompetitiv an eine andere als die ADP-Bindungsstelle des Rezeptors bindet. Im Gegensatz zu den Thienopyridinen ist Ticagrelor kein Prodrug, d.h. es benötigt keine metabolische Aktivierung im Organismus [88]. Es zeigt einen raschen Wirkungseintritt und eine ausgeprägtere Thrombozytenhemmung als Clopidogrel und könnte daher besonders für Patienten mit einem akuten Koronarsyndrom attraktiv sein, um die Wartespanne beispielsweise bis zu einer Bypassoperation zu überbrücken [89]. In der klinischen Phase III-Studie PLATO erwies sich Ticagrelor, verglichen mit Clopidogrel, als wirksam und sicher [90].

1.4.5 Residuelle Thrombozytenreaktivität

Mittlerweile ist insbesondere für Clopidogrel und ASS gut belegt, dass ihre thrombozyteninhibitorische Wirkung interindividuell erheblich variiert [91; 92; 93; 94; 95; 96]. So weist ein beträchtlicher Anteil an Patienten, trotz antithrombozytärer Therapie eine pathologisch relevante Thrombozytenreaktivität auf. Es konnte gezeigt werden, dass diese so genannte residuelle Thrombozytenreaktivität [97; 98; 99] mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko sowohl im peri-interventionellen Zeitraum [100; 101] als auch im Langzeitverlauf einhergeht [99].

Für das verminderte oder fehlende Ansprechen auf Clopidogrel oder ASS – von einigen Autoren auch als „Clopidogrel- bzw. ASS-Resistenz“ bezeichnet – wurden multifaktorielle Ursachen, wie z.B. eine verminderte intestinale Resorption des Wirkstoffes, verantwortlich gemacht. Bezüglich Clopidogrel, schreiben zahlreiche Studien der verminderten Konversion zum aktiven Metaboliten in der Leber über CYP3A4 eine Rolle zu, aber auch Polymorphismen des P_2Y_{12}-Rezeptors werden in diesem Zusammenhang diskutiert [85; 102; 103; 104]. Neben einem verminderten Ansprechen auf die antithrombozy-

täre Therapie, kann auch eine bereits basal (vor Therapiebeginn) gesteigerte Aktivierung ursächlich für eine erhöhte residuale Thrombozytenreaktivität sein [105].

Darüber hinaus scheint die Aktivität des Gerinnungssystems bzw. des inflammatorischen System das Ansprechen auf Thrombozyten-Inhibitoren zu beeinflussen. So konnte prospektiv randomisiert nach kardiopulmonaler Bypass-OP, einem extrem potententen Stimulus für das inflammatorische System und das Gerinnungssystem, Clopidogrel wie ASS bei keinem der eingeschlossenen Patienten die ex-vivo induzierte Plättchenaggregation signifikant inhibieren [106] Analog dazu war in einer prospektiven Studie zur Clopidogrel-Resistenz nach Stent-Implantation der Anteil der Patienten mit akutem Koronarsyndrom in der Gruppe der Clopidogrel-Non-Responder signifikant erhöht [103].

1.5 Fragestellung

Vieles deutet darauf hin, dass in der besonderen Konstellation eines akuten Koronarsyndroms (ACS), das mit einer ausgeprägten Inflammation und Aktivierung des Gerinnungssystems - insbesondere der Thrombozyten - einhergeht, das Ansprechen auf Clopidogrel und ASS vermindert ist, was ggf. eine Anpassung des antithrombozytären Standard-Regimens bzw. alternative Therapieansätze notwendig machen würde. Was die Vorbehandlung vor Stentimplantation im Rahmen eines akuten Koronarsyndroms angeht, tragen die entsprechenden Leitlinien dieser besonderen Konstellation mit der Empfehlung einer höheren Clopidogrel Loading-Dose von 600mg bzw. einer hochdosierten ASS-Gabe (500mg) bereits Rechnung. Darüber hinaus wird nach akutem Koronarsyndrom unabhängig von der Intervention eine duale Thrombozytenaggregationshemmung mit Clopidogrel und ASS empfohlen [85; 86]. Zahlreiche Studien haben jedoch gezeigt, dass weder die Entzündungsreaktion noch die Aktivierung des Gerinnungssystems zeitlich auf das akute Ereignis beschränkt sind. Im Gegenteil, entsprechende laborchemische Parameter wie C-reaktives Protein (CRP), D-Dimere, Prothrombin-Fragment 1 und 2, lösliche Zelladhasionsmoleküle, CD-40 Ligand etc. sind über mehr als 6 Monate signifikant erhöht [102; 104; 107; 108; 109; 110]. Ob diese Veränderungen ein vermindertes Ansprechen auf Clopidogrel zur Folge haben ist bislang nicht hinreichend untersucht worden.

Mit der Hypothese, dass eine protrahierte inflammatorische Antwort und Aktivierung des Gerinnungssystems bei akutem Koronarsyndrom die residuale Thrombozytenreaktivität erhöht, ist es Ziel dieser Untersuchung die Clopidogrel- und ASS-Wirkung in Abhängigkeit von zeitlichem Abstand zum Infarkt-Ereignis, inflammatorischem Status und Gerinnungsstatus zu messen, um zukünftig das Risiko einer Stentimplantation durch geeignete präventive Therapiemaßnahmen weiter zu minimieren.

2 Patienten, Material und Methoden

Die vorliegende Untersuchung gliedert sich in zwei Teile: Im Hauptversuch wurden Thrombozytenfunktionstests nach dualer antithrombozytärer Therapie mit Clopidogrel und ASS im Anschluss an eine PTCA mit Stentimplantation vorgenommen. Den zweiten Teil stellte ein Methodenvergleich zwischen den Verfahren Lichttransmissionsaggregometrie (LTA) und Multiple-Elektroden-Aggregometrie (MEA) dar.

2.1 Auswahl der Patienten

In die Studie wurden Patienten eingeschlossen, bei denen im Zeitraum von Oktober 2007 bis November 2008 in der Medizinischen Klinik für Kardiologie und Angiologie der Berliner Charité, Campus Mitte, eine koronare Stentimplantation durchgeführt wurde. Voraussetzung für die Teilnahme an der Studie war eine mündliche und schriftliche Einverständniserklärung.

Für den Hauptversuch wurden 66 Patienten rekrutiert, deren Datensätze vollständig waren und bei denen die im Folgenden aufgeführten Einschlusskriterien erfüllt waren.

Für den Methodenvergleich zwischen LTA und MEA wurden zusätzlich Proben von Patienten ausgewertet, die im Verlauf aufgrund von Ausschlusskriterien aus der Hauptstudie ausgeschlossen worden waren.

Einschlusskriterien für Patienten des Hauptversuchs:

1. Versuchsgruppe: Koronare PTCA-Stentimplantation innerhalb von 12 Stunden nach Erstvorstellung wegen eines akuten Myokardinfarkts
   - akuter Thoraxschmerz im Sinne einer instabilen Angina pectoris
   - signifikant erhöhtes Troponin T (Troponin T > 0,03 µg/l)

   Der Einschluss von Patienten war unabhängig vom Vorhandensein von EKG-Veränderungen (STEMI und NSTEMI).

2. Kontrollgruppe: Elektive koronare Stentimplantation bei klinisch stabilen Patienten ohne Myokardinfarkt innerhalb der vorausgegangenen 12 Monate .

Generelle Ausschlusskriterien:

- zentrale Ischämie im Sinne eines Apoplex cerebri oder einer transienten ischämischen Attacke (TIA) innerhalb der letzten 12 Monate
- linksventrikuläre Ejektionsfraktion < 35%
- hämodynamische Instabilität
- periinterventionelle Gabe von Abciximab
- maligne Tumorerkrankungen
- bekannte Erkrankungen aus dem autoimmunen oder rheumatischen Formenkreis
- akute oder chronische Infektionskrankheit
- orale antikoagulatorische Therapie mit Cumarin-Derivaten
- Thrombozytenzahl < 100 000/µl
- Niereninsuffizienz (Serum-Kreatinin > 2 mg/dl)
- Leberinsuffizienz (Bilirubin > 2mg/dl)
- operativer Eingriff innerhalb der letzten 90 Tage
- Indikation zur operativen Revaskularisierung während des Beobachtungszeitraumes
- dauerhafte Einnahme von nicht-steroidalen Antiphlogistika – insbesondere COX-I-Inhibitoren wie Ibuprofen
- Unverträglichkeit gegen ASS und/oder Clopidogrel
- Suchterkrankungen wie Alkohol-, Drogen- und Medikamentenabhängigkeit

Allen Patienten, mit Ausnahme derjenigen, die zum Untersuchungszeitpunkt bereits seit mehr als 7 Tagen kontinuierlich mit Clopidogrel therapiert waren, wurde eine Aufsättigungsdosis („loading dose“) Clopidogrel verabreicht. Die Wahl dieser Aufsättigungsdosis (300 oder 600 mg) lag im Ermessen des Untersuchers.

Patienten mit einem akuten Myokardinfarkt erhielten 500 mg ASS per os oder intravenös und Patienten vor einer elektiven PTCA 100 mg ASS.

Patienten, denen periinterventionell einer der GPIIb/IIIa-Inhibitoren Eptifabide oder Tirofiban verabreicht worden war, wurden nur dann in die Studie aufgenommen, wenn diese Therapie mindestens 15 Stunden vor der ersten Blutentnahme (Zeitpunkt T1 des Studienprotokolls, s.u.) beendet wurde.

Die periinterventionelle Gabe von Abciximab stellte wegen dessen langer Halbwertzeit ein Ausschlusskriterium dar.

2.2 Hauptversuch: Thrombozytenfunktionsuntersuchungen

2.2.1 Blutentnahmen

Das Blut zur Prüfung der Thrombozytenfunktion wurde in 10 ml- und 4,5 ml-Blutentnahmeröhrchen abgenommen, die 1 ml Citrat (0,106 mol/l, Fa. Sarstedt, Nuermbrecht) beziehungsweise Hirudin (200 U/ml, Fa. Dynanyte, München) enthielten. Zur Venenpunktion wurden Butterfly-Kanülen mit einem Durchmesser von 0,8 mm verwendet (Fa. BD Becton Dickinson, Heidelberg).

Nach erfolgter Punktion wurden die Röhrchen bis zur markierten Füllhöhe aufgefüllt und anschließend zur Durchmischung drei bis fünf Mal vorsichtig gewendet.

Die Blutproben wurden innerhalb von zwei Stunden nach der Entnahme verarbeitet.

2.2.2 Messzeitpunkte

Die erste Blutentnahme (Zeitpunkt T1) erfolgte 48 ± 6 Stunden nach Stentimplantation. Entsprechend dem Studienprotokoll waren die Patienten zu diesem Zeitpunkt bereits

mindestens zwei Tage mit antithrombozytärer Erhaltungsdosis (100 mg ASS und 75 mg Clopidogrel) behandelt worden.

Allen Patienten wurde nach 30 Tagen erneut Blut entnommen (Zeitpunkt T2), nachdem eine Woche vor dem geplanten Follow-up-Termin die Compliance hinsichtlich der regelmäßigen Medikamenteneinnahme telefonisch abgefragt worden war.

2.2.3 Lichttransmissionsaggregometrie nach Born

Die Lichttransmissionsaggregometrie nach Born gilt heute noch als Goldstandard zur Diagnostik der Thrombozytenfunktion. Dem Verfahren liegt eine photometrische Messung der optischen Dichte des zu analysierenden Mediums – hier thrombozytenreiches Plasma - zu Grunde.

Für die vorliegende Untersuchung wurde zunächst thrombozytenreiches Plasma (PRP) aus einer Vollblutprobe mit 3,8% Citrat durch zehnminütiges Zentrifugieren bei 160 g gewonnen.

Durch Verdünnen mit autologem thrombozytenarmen Plasma (gewonnen durch Zentrifugation mit 1000 g für 10 min) wurde die Thrombozytenzahl des PRP auf einen Wert zwischen 100 und 300/nl justiert.

Das PRP wurde vorsichtig mit einer Pipette abgenommen und in eine lichtdurchlässige Küvette überführt. Um die Funktionsfähigkeit der Thrombozyten zu prüfen, wurde dem PRP in einem Analysegerät ein Agonist zugefügt. Die einsetzende Aggregation führte zur Aufklärung des PRP und damit zu einer höheren Lichtdurchlässigkeit (zunehmende Transmission).

Die Transmissionszunahme innerhalb einer gegebenen Zeit steht in direktem Verhältnis zur Thrombozytenaggregation. Sie wurde fortlaufend photometrisch registriert und in Kurvenform kontinuierlich aufgezeichnet.

Zielgröße dieser Studie war die maximale Lichttransmission nach Zugabe des jeweiligen Agonisten. Diese wurde in relativen Werten angegeben, wobei die basale Lichttransmission von autologem thrombozytenarmen Plasma als Referenz diente.

Durchführung der Messungen:

- Zugabe von ADP (Fa. Haemochrom Diagnostica, Essen)
  a) 2,5 µmol/L ADP (LTA-$ADP_{2,5\mu M}$)
  b) 5 µmol/L (LTA–$ADP_{5\mu M}$)
- Zugabe von 0,5 mg/ml Arachidonsäure (LTA-AA) (Fa. Haemochrom Diagnostica, Essen)

Als Analysegerät wurde der Platelet Aggregation Profiler® (PAP-8E, Fa. BIO/DATA Corporation, Horsham, Pennsylvania/USA) eingesetzt.

Die Thrombozytenaggregation wurde über die Zeit von 10 min in einer Kurve aufgezeichnet und die maximale Thrombozytenaggregation analysiert. Das Ergebnis wurde als prozentualer Anteil des Referenzwertes (thrombozytenarmes Plasma) angegeben (vgl. Abbildung 6).

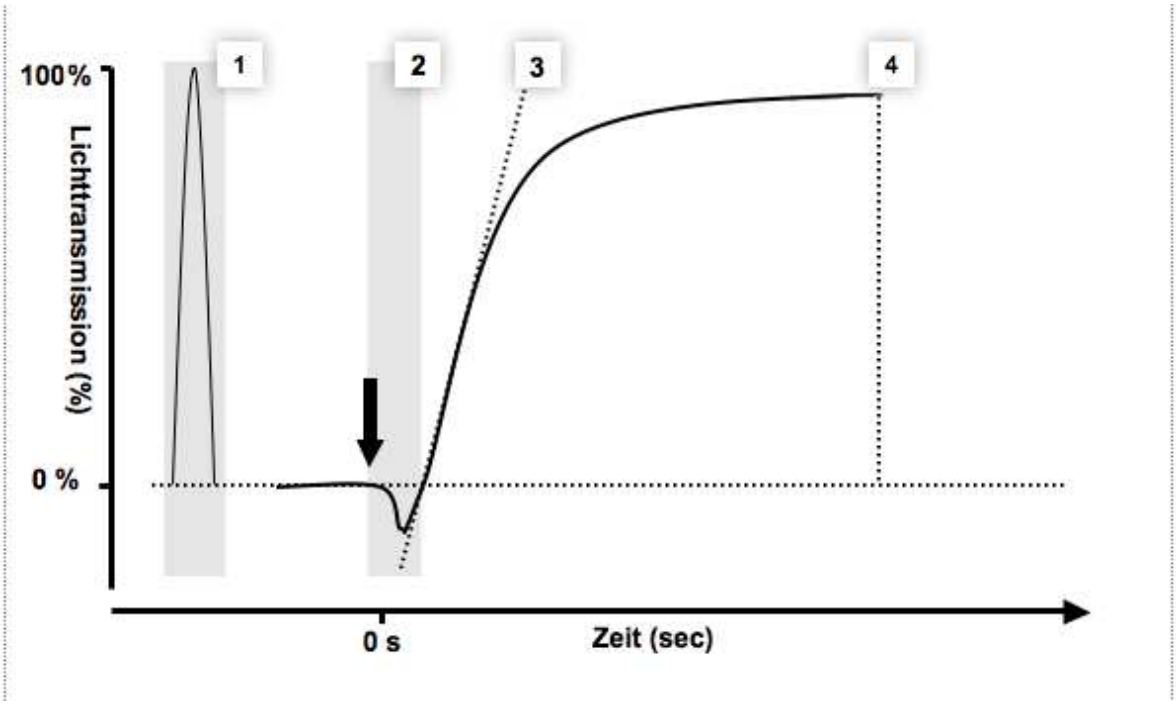

Abbildung 6: Schematischer Kurvenverlauf bei Lichttransmissionsaggregometrie nach Born
1: Referenzküvette aus thrombozytenarmem Plasma mit 100% Lichttransmission
2: Zugabe des Agonisten; kurzzeitige Abnahme der Lichtransmission durch *„shape change“*
3: Kurvenverlauf zeigt die Geschwindigkeit der Aggregation an
4: maximale Thrombozytenaggregation

2.2.4 Impedanzaggregometrie

Neben der Lichttransmissionsaggregometrie nach Born wurde als weitere, neuere Methode zur Bestimmung der Thrombozytenreaktivität die Impedanzaggregometrie (MEA = *Multiple Electrode Aggregometry*) im Vollblut mit Hilfe des Messsysytems Multiplate® (Fa. Dynabyte, München, Abbildung 7) durchgeführt.

Abbildung 7: Multiplate®-System (http://www.multiplate.net/de/detection.php; mit freundlicher Genehmigung der Verum Diagnostica GmbH, München)

In der Messzelle des Gerätes befinden sich zwei parallel angeordnete Sensorpaare aus jeweils zwei silberbeschichteten Sensordrähten. Wenn sich Thrombozyten an die Oberfläche der Drähte anheften, erhöht sich der messbare elektrische Widerstand zwischen ihnen (Abbildung 8). Bei den Messungen mit dem Multiplate®-System wird nach einer Aktivierung der Thrombozyten der Anstieg der Impedanz (Wechselspannungswiderstand) kontinuierlich über 6 Minuten im Vollblutansatz gemessen [111].

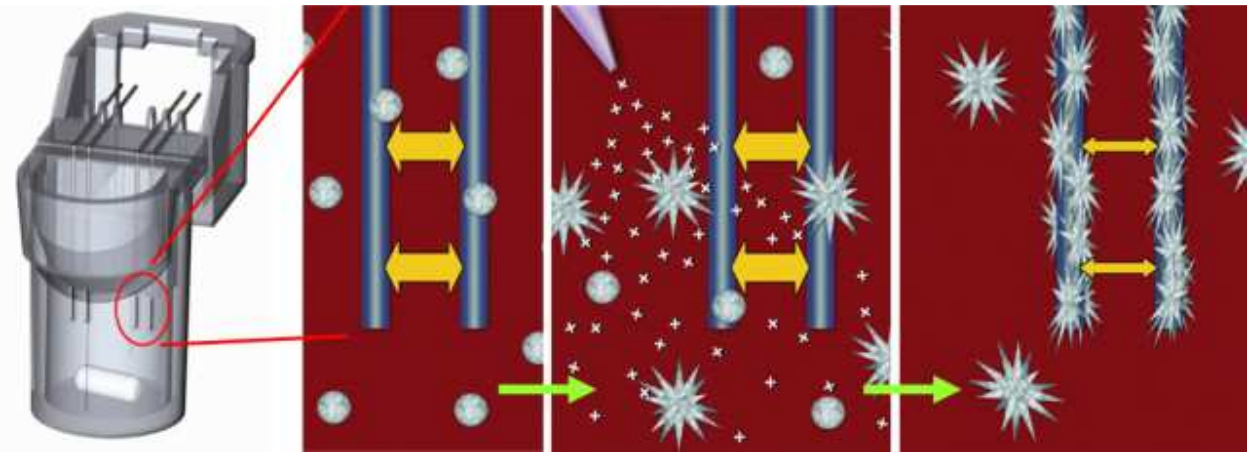

Abbildung 8: Messprinzip des Multiplate®-Systems (http://www.multiplate.net/de/detection.php; mit freundlicher Genehmigung der Verum Diagnostica GmbH, München)

links: Messzelle mit zwei Messeinheiten aus jeweils zwei Sensoren. rechts: Anheftung, Spreading und Aggregation der Thrombozyten bewirken messbare Widerstandsänderungen zwischen den beiden Sensordrähten

Die Thrombozytenreaktivität kann quantifiziert werden, indem die für die Impedanz gemessenen Werte graphisch gegen die Zeit aufgetragen werden. Die Software des Gerätes errechnet die Fläche unter der Aggregationskurve (Area Under Curve = AUC) als Integral über der Zeit und gibt den Wert in arbiträren Einheiten aus.

Im Gegensatz zur Lichttransmissionsaggregometrie im Plasma erfolgt der Nachweis der Thrombozytenaggregation hier im Vollblut und damit der physiologischen Umgebung der Thrombozyten (Erythrozyten, Leukozyten, Plasma).

<u>Durchführung der Messungen:</u>

Zur Aktivierung der Thrombozyten wurden unterschiedliche Testansätze verwendet:

- 6,4 µmol/L ADP (ADP-Test)
  ADP mediiert die Thrombozytenaggregation über die 2 purinergen Rezeptoren P_2Y_{12} und P_2Y_{12}. Der Rezeptor P_2Y_{12} wird durch Clopidogrel, Prasugrel und Ticlopidin blockiert.

- 6,4 µmol/L ADP + 20 nmol/L Prostaglandin E1 (PGE1) (ADP HS-Test) Die Zugabe des Agonisten PGE1 erfolgt, um eine höhere Spezifität von ADP zum P_2Y_{12}-Rezeptor, dem Ziel von Clopidogrel, zu erreichen: PGE1 vermindert die Signaltransduktion des ADP-Rezeptors P_2Y_1 durch Abschwächung der intrazellulären Ca^{++}-Antwort [112]).
- 0,5 mmol/L Arachidonsäure (ASPItest)
  Thrombozytenaktivierung mittels Arachidon-Säure, dem Substrat der Cyclooxygenase (COX). COX bildet Thromboxan A_2 (TXA_2), einen potenten Thrombozytenaktivator.

Alle Agonisten wurden mit standardisierten Konzentrationen von dem Hersteller des Multiplate®-Gerätes (Fa. Dynabyte, München) bezogen.

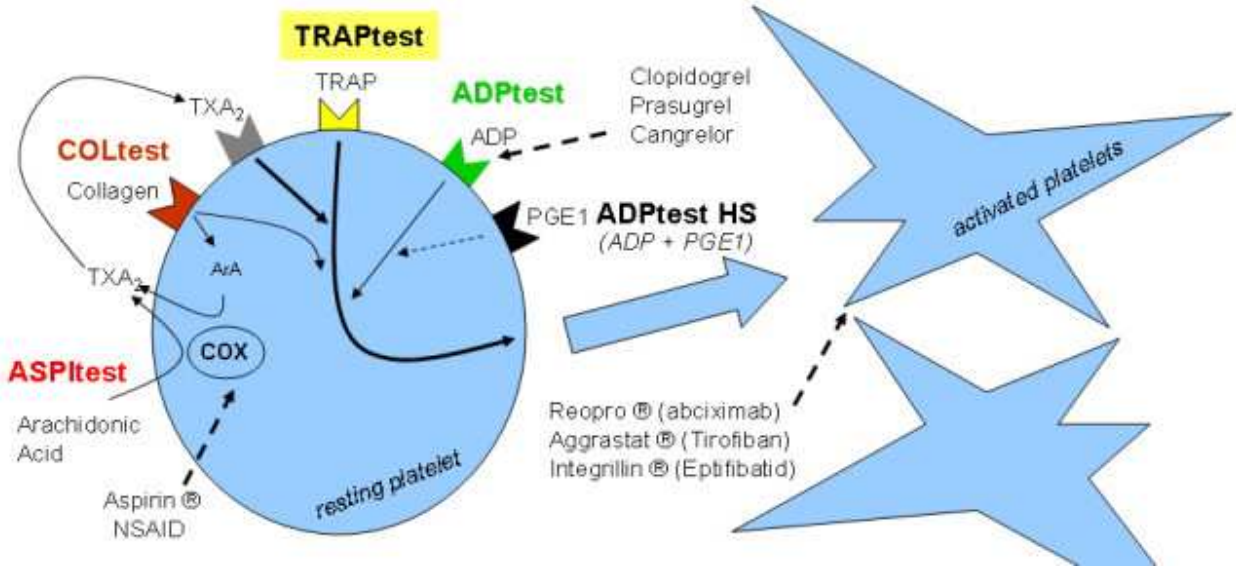

Abbildung 9: Multiplate®-Tests (http://www.multiplate.net/de/detection.php; mit freundlicher Genehmigung der Verum Diagnostica GmbH, München)
Von den hier schematisch dargestellten Tests wurden in der vorliegenden Untersuchung der ADPtest, der ADPtest HS und der ASPItest eingesetzt.

2.2.5 Statistische Analyse

Als Stichprobengröße wurden 30 Patienten pro Gruppe gewählt. Für diese Fallzahl wurde eine Power von 80% auf das einseitige Signifikanzniveau α von 0,05 (p-Wert) errechnet. D.h., dass die Stichprobengröße ausreicht, um eine absolute Differenz von 10% der durchschnittlichen, durch 5µM-ADP-induzierten, mittleren Thrombozyten–aggregation bei der LTA festzustellen.

Alle statistischen Auswertungen wurden mit Hilfe der Software SPSS Version 17.0 (Fa. SPSS Inc, Chicago, Illinois/USA) durchgeführt.

Die Ergebnisse wurden für stetige Merkmale als arithmetische Mittelwerte ± Standardabweichung und für diskrete Merkmale als Häufigkeiten und Perzentilen angegeben.

Zur Ermittlung von Unterschieden zwischen beiden Gruppen wurden für stetige Merkmale der Mann-Whitney-U-Test, für diskrete Merkmale der Chi-Quadrat-Test verwendet.

Der statistische Vergleich der Ergebnisse nach 48 h und 30 Tagen wurde unter Verwendung des Wilcoxon-Tests für verbundene Stichproben durchgeführt.

Potentielle Einflussgrößen auf die residuelle Thrombozytenreaktivität wurden mit Methoden der univariaten Regression analysiert. Eingeschlossene Variablen waren die Thrombozytenzahl, Leukozytenzahl, Hämoglobin, C-reaktives Protein (CRP), Fibrinogen, D-Dimere, maximale Erhöhung der Kreatinkinase (CK_{max}), linksventrikuläre Ejektionsfraktion, Diabetes mellitus, Hyperlipoproteinämie, arterieller Hypertonus, Einnahme von Statinen, die Gabe von GPIIb/IIIa-Rezeptorantagonisten sowie die Zugehörigkeit zur Gruppe der Patienten mit einem Myokardinfarkt.

Diejenigen Faktoren, für die die univariate Regressionsanalyse einen statistisch signifikanten Einfluss auf die Thrombozytenreaktivität zeigte, wurden zusätzlich einer multivariaten schrittweisen logistischen Regression unterzogen.

Als Signifikanzniveau wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ festgelegt.

2.3 Methodenvergleich LTA und MEA

Ein Vergleich der Methoden LTA und MEA erfolgte durch Untersuchungen zum Zusammenhang zwischen den Parametern ADP 2,5 µM vs. ADPtest, ADP 5 µM vs. ADPtest HS sowie AA vs. ASPItest. Dazu wurden einerseits die Messwerte selbst verwendet. Zusätzlich erfolgte eine Transformation dieser Messwerte durch Dichotomisierung jeder Variablen an der 75 %-Perzentile. Die 25 % höchsten Werte bildeten dabei eine Kategorie (4. Quartil) und die 75 % kleinsten Werte die andere Kategorie (1.-3. Quartil). Hierbei entspricht das 4. Quartil der höchsten Thrombozytenreaktivität, d.h. einer unvollständigen Thrombozytenhemmung.

Folgende statistische Verfahren wurden benutzt:

Die Untersuchung der Korrelation von LTA und MEA erfolgte mit Hilfe des Korrelationskoeffizienten nach Pearson [113]). Hierzu wurden die Messwerte beider Zeitpunkte zusammengefasst. Die Interpretation der Ergebnisse erfolgte nach Kategorisierung der Messwerte:

<0,2	sehr schwache Korrelation
0,21-0,4	schwache Korrelation
0,41-0,6	moderate Korrelation
0,61-0,8	starke Korrelation
0,81-1,00	sehr starke Korrelation

Die Übereinstimmung von LTA und MEA hinsichtlich der Identifikation von Patienten mit erhöhter Thrombozytenreaktivität im Sinne einer Einteilung in die 4. Quartile (s.o.) mittels Interrater-Reliabilität („Cohens Kappa“) ermittelt [114]). Die Kappa-Werte wurden folgendermaßen kategorisiert.

<0,2	geringe Übereinstimmung
0,21-0,4	leichte Übereinstimmung
0,41-0,6	moderate Übereinstimmung
0,61-0,8	substanzielle Übereinstimmung
0,81-1,00	(fast) vollständige Übereinstimmung

3 Ergebnisse

3.1 Patientencharakteristika

Zwischen 29. Oktober 2007 und 27. November 2008 wurden 66 Patienten konsekutiv in diese Studie eingeschlossen, wobei 36 Patienten einer PTCA mit Stentimplantation bei akutem Myokardinfarkt (Versuchsgruppe) und 30 Patienten einer elektiven Stentimplantation (Kontrollgruppe) unterzogen worden waren. Die Patienten–charakteristika sind in Tabelle 1 aufgelistet.

Tabelle 1: Patientencharakteristika
(Werte sind als n (%) oder Mittelwert angegeben)

Patientencharakteristika	Versuchsgruppe (n = 36)	Kontrollgruppe (n = 30)	p
Alter (Jahre)	62,1	64,0	0,25
Geschlecht			
weiblich	4 (13,3%)	6 (16,7%)	0,75
männlich	32 (86,7%)	24 (83,3%)	0,79
LVEF (%)	50,3	60,1	<0,001
STEMI	21 (58,3%)	-	-
NSTEMI	14 (41,7%)	-	-
Zahl der erkrankten Koronargefäße			0,07
1	10 (27,8%)	12 (40,0%)	
2	17 (47,2%)	6 (20,0%)	
3	9 (25,0%)	12 (40,0%)	
Drug eluting stent	14 (38,9%)	16 (83,3%)	0,24
Kardiale Risikofaktoren			
Hyperlipoproteinämie	24 (66,7%)	25 (83,3%)	0,16
Hypertonus	27 (75,0%)	27 (90,0%)	0,20
Diabetes mellitus	10 (27,8%)	8 (26,7%)	1,00
Medikation			-
Clopidogrel	36 (100%)	30 (100%)	-
Aspirin	36 (100%)	30 (100%)	-
GPIIb/IIIa-Inhibitoren	11 (30,6%)	-	-
Eptifabitide	10 (27,8%)	-	-
Tirofiban	1 (2,8%)	-	-
Statine	31 (83,8%)	26 (86,7%)	0,74
β-Blocker	35 (97,2%)	28 (93,3%)	0,59
ACE-Hemmer/ARB	30 (83,8%)	26 (86,7%)	0,75
Kalzium-Antagonisten	11 (30,6%)	13 (43,3%)	0,31

Bei fünf von 30 Patienten der Kontrollgruppe wiesen spezifische Biomarker (Troponin T, Kreatininkinase) postinterventionell auf eine myokardiale Zellschädigung hin. Jedoch wurde aufgrund Abwesenheit klinischer Manifestationen oder signifikanter EKG-Veränderungen bei keinem dieser Patienten die Diagnose eines Myokardinfarktes ge-

stellt. Darüber hinaus gab es hinsichtlich der residuellen Thrombozytenreaktivität keinen signifikanten Unterschied zwischen den Patienten der Kontrollgruppe mit und ohne erhöhte postinterventionelle Biomarker.

3.2 Hauptversuch: Thrombozytenfunktionstests

3.2.1 Residuelle Thrombozytenreaktivität 48 h nach Stentimplantation

3.2.1.1 Übersicht

In Abbildung 10 sind die Ergebnisse aller Einzelversuche der residuellen Thrombozytenreaktivität 48 h nach Stentimplantation zusammengefasst. Man erkennt, dass unter allen angewendeten Testbedingungen die Werte der Versuchsgruppe (akuter Myokardinfarkt) statistisch signifikant höher ausfielen, als diejenigen der Kontrollgruppe (elektive koronare Stentimplantation).

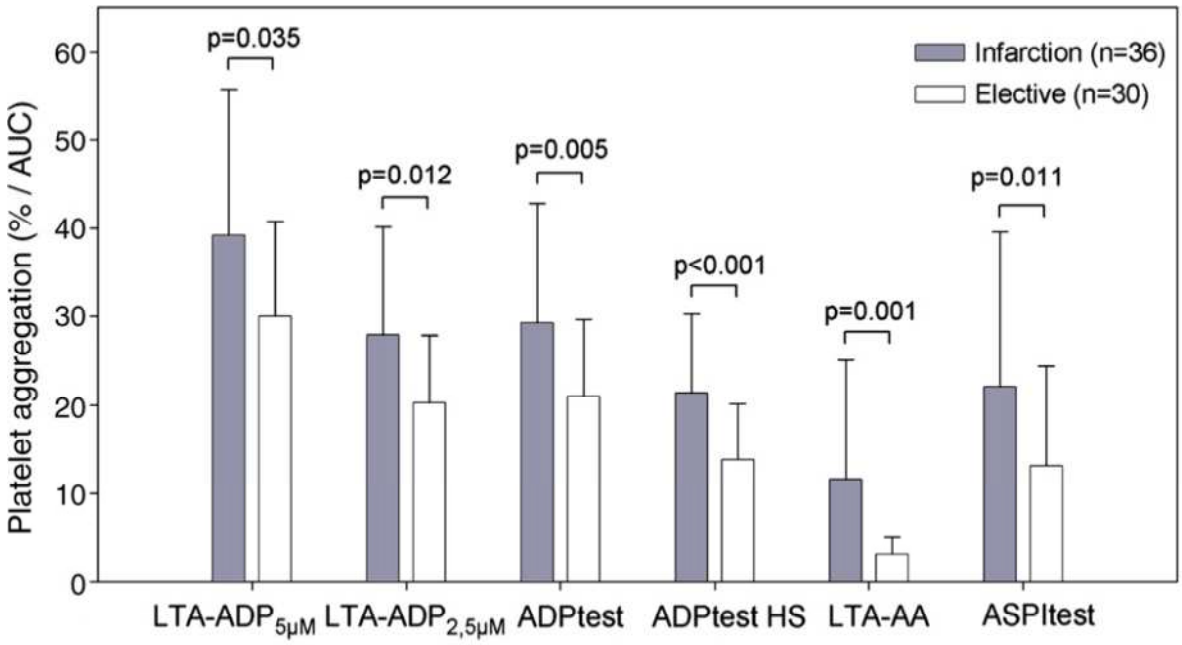

Abbildung 10: Residuelle Thrombozytenreaktivität 48 h nach Stentimplantation: Thrombozytenaggregation (MW + SD; Angaben in Prozent bei Lichttransmissionsaggregometrie (LTA) und als AUC bei der Impedanzaggregometrie (MEA) [115]
LTA-$ADP_{5µM}$ = LTA induziert mit 5 µM ADP
LTA-$ADP_{2,5µM}$ = LTA induziert mit 2,5 µM ADP
ADPtest = MEA induziert mit 6,4 µM ADP
ADPtest HS = MEA induziert mit 6,4 µM ADP + 20 nM Prostaglandin E1
LTA-AA = LTA induziert mit 0,5 mg/ml AA
ASPItest = MEA induziert mit 0,5 mM AA

3.2.1.2 ADP-induzierte Thrombozytenreaktivität nach 48 h

Die residuelle ADP-induzierte Thrombozytenreaktivität war bei Patienten 48 Stunden nach Stentimplantation mit akutem Myokardinfarkt (Versuchsgruppe) im Vergleich mit Patienten nach elektiver koronarer Stentimplantation (Kontrollgruppe) signifikant erhöht.

Tabelle 2: ADP-induzierte Thrombozytenreaktivität nach 48h

	Versuchsgruppe (n = 36)	Kontrollgruppe (n = 30)	p
LTA-ADP5µM (%)	39,22 ± 16,53	30,00 ± 10,78	0,035
LTA-ADP2,5µM (%)	27,94 ± 12,26	20,30 ± 7,58	0,012
ADPtest (AUC)	29,29 ± 13,52	21,03 ± 8,62	0,005
ADPtest HS (AUC)	21,40 ± 8,88	13,83 ± 6,34	< 0,001

3.2.1.3 AA-induzierte Thrombozytenreaktivität nach 48 h

Ebenso war die durch Arachidonsäure induzierte Thrombozytenaggregation 48 Stunden nach Stentimplantation bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt (Versuchsgruppe) im Vergleich mit Patienten nach elektiver koronarer Stentimplantation (Kontrollgruppe) statistisch signifikant erhöht.

Tabelle 3: AA-induzierte Thrombozytenreaktivität nach 48h

	Versuchsgruppe (n = 36)	Kontrollgruppe (n = 30)	p
LTA-AA (%)	11,61 ± 13,50	3,13 ± 1,85	0,001
ASPItest (AUC)	22,14 ± 17,46	13,10 ± 11,30	0,011

3.2.2 Residuelle Thrombozytenreaktivität 30 Tage nach Stentimplantation

3.2.2.1 Zeitpunkt der Verlaufskontrolle

Die 30-Tage Verlaufskontrolle konnte aus organisatorischen Gründen nicht in allen Fällen zeitgerecht durchgeführt werden, u.a. da viele Patienten die Möglichkeit einer ortsfernen Anschlussheilbehandlung wahrnahmen. Entsprechend ergab sich ein mittlerer Zeitraum von 37 Tagen nach Stentimplantation bis zur Verlaufskontrolle.

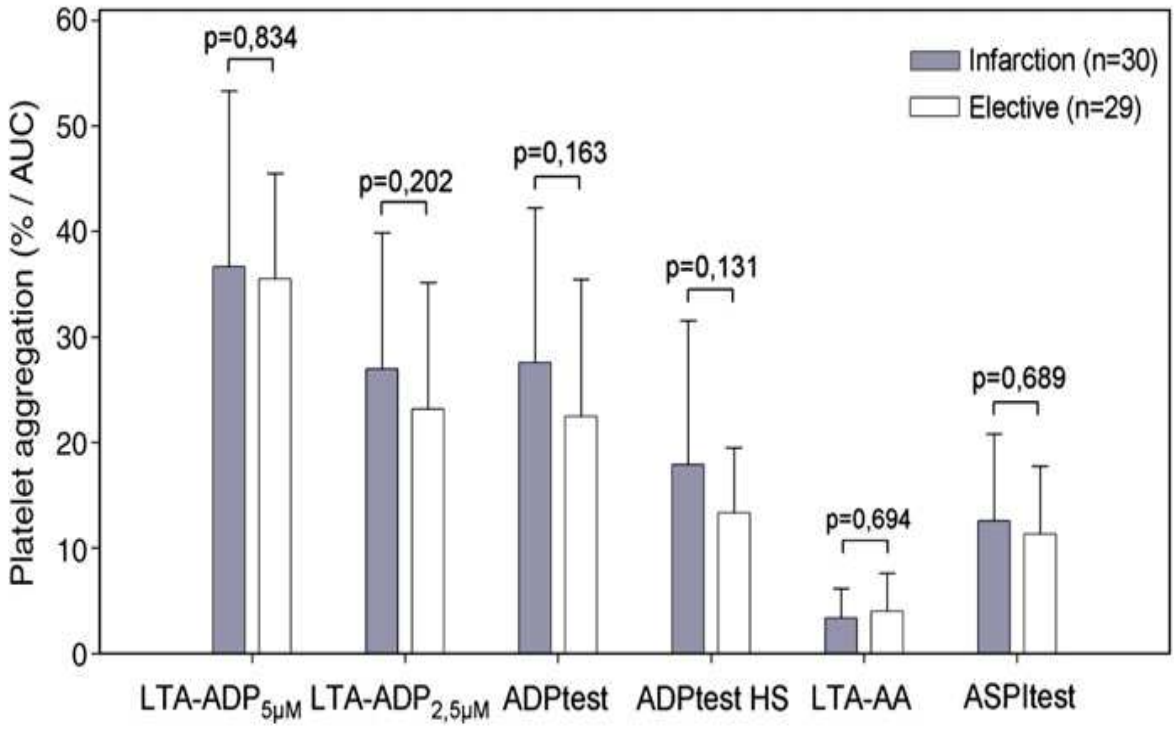

Abbildung 11: Residuelle Thrombozytenreaktivität 37 Tage nach Stentimplantation: Thrombozytenaggregation (MW + SD; Angaben in Prozent bei Lichttransmissionsaggregometrie (LTA) und als AUC bei der Impedanzaggregometrie (MEA)) [115]
LTA-ADP$_{5µM}$ = LTA induziert mit 5 µM ADP
LTA-ADP2$_{,5µM}$ = LTA induziert mit 2,5 µM ADP
ADPtest = MEA induziert mit 6,4 µM ADP
ADPtest HS = MEA induziert mit 6,4 µM ADP + 20 nM Prostaglandin E1
LTA-AA = LTA induziert mit 0,5 mg/ml AA
ASPItest = MEA induziert mit 0,5 mM AA

3.2.2.2 ADP-induzierte Thromboztenreaktivität nach 30 Tagen

Zum Zeitpunkt der Verlaufskontrolle war die ADP-induzierte Thrombozytenaggregation bei Patienten aus der Versuchsgruppe durchweg erhöht. Trotz dieses durchgehenden Trends bei allen Testansätzen konnte in den statistischen Analysen kein signifikanter Unterschied zwischen den Studiengruppen nachgewiesen werden. Dies wurde zum Teil jener Tatsache geschuldet, dass es in der Kontrollgruppe einen nicht signifikanten Anstieg der Thrombozytenreaktivität im Zeitraum zwischen T1 und T2 gab (vgl. Kap. 3.2.3).

Tabelle 4: ADP-induzierte Thrombozytenreaktivität nach 30 Tagen

	Versuchsgruppe (n = 36)	Kontrollgruppe (n = 30)	p
LTA-ADP5µM (%)	36,67 ± 16,66	35,50 ± 10,00	0,834
LTA-ADP2,5µM (%)	26,97 ± 12,89	23,14 ± 12,02	0,202
ADPtest (AUC)	27,57 ± 14,63	22, 46 ± 12,99	0,163
ADPtest HS (AUC)	17,89 ± 13,67	13,32 ± 6,18	0,131

3.2.2.3 AA-induzierte Thrombozytenreaktivität nach 30 Tagen

Auch hinsichtlich der AA-induzierten Thrombozytenreaktivität fanden sich nach durchschnittlich 37 Tagen keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen beiden Studiengruppen.

Tabelle 5: AA-induzierte Thrombozytenreaktivität nach 37 Tagen

	Versuchsgruppe (n = 36)	Kontrollgruppe (n = 30)	p
LTA-AA (%)	3,33 ± 2,81	3,97 ±; 3,62%	0,694
ASPItest (AUC)	12,57 ± 8,21	11,34 ± 6,41	0,689

3.2.3 Residuelle Thrombozytenreaktivität im Zeitverlauf

Bei der Gegenüberstellung der Daten 48 Stunden (Zeitpunkt T1) und 37 Tage (Zeitpunkt T2) nach Stentimplantation bestanden in der Kontrollgruppe keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen beiden Messzeitpunkten. In der Versuchsgruppe zeigten sich nach der Induktion mit Arachidonsäure sowohl in der MEA als auch der LTA statistisch signifikant geringere Werte zum Zeitpunkt T2 als zum Zeitpunkt T1 (Tabelle 6).

Tabelle 6: Residuelle Thrombozytenreaktivität im Zeitverlauf

Versuchsgruppe	48 Stunden (n = 36)	37 Tage (n = 30)	p
LTA-ADP5µM (%)	39,22 ± 16,53	36,67 ± 16,66	0,537
LTA-ADP2,5µM (%)	27,94 ± 12,26	26,97 ± 12,89	0,756
ADPtest (AUC)	29,29 ± 13,52	27,57 ± 14,63	0,624
ADPtest HS (AUC)	21,40 ± 8,88	17,89 ± 13,67	0,239
LTA-AA (%)	11,61 ± 13,50	3,33 ± 2,81	<0,001
ASPItest (AUC)	22,14 ± 17,46	12,57 ± 8,21	0,005
Kontrollgruppe	48 Stunden (n = 36)	37 Tage (n = 30)	p
LTA-ADP5µM (%)	30,00 ± 10,78	35,50 ± 10,00	0,359
LTA-ADP2,5µM (%)	20,30 ± 7,58	23,14 ± 12,02	0,284
ADPtest (AUC)	21,03 ± 8,62	22, 46 ± 12,99	0,85
ADPtest HS (AUC)	13,83 ± 6,34	13,32 ± 6,18	0,756
LTA-AA (%)	3,13 ± 1,85	3,97 ±; 3,62%	0,269
ASPItest (AUC)	13,10 ± 11,30	11,34 ± 6,41	0,463

Die Darstellungen des individuellen Verlaufs bei Patienten aus der Versuchsgruppe (Abbildung 12) zeigten, dass sowohl mittels LTA als auch mittels MEA bei einzelnen Patienten zum Zeitpunkt T2 eine deutlich geringere AA-induzierte Thrombozytenreaktivität nachweisbar war als zum Zeitpunkt T1. Die Unterschiede zwischen beiden Messzeitpunkten waren für die Gesamtgruppe bei den Messungen mit LTA statistisch hoch signifikant (p = 0,001) und bei den Messungen mit MEA nicht statistisch signifikant (p = 0,070).

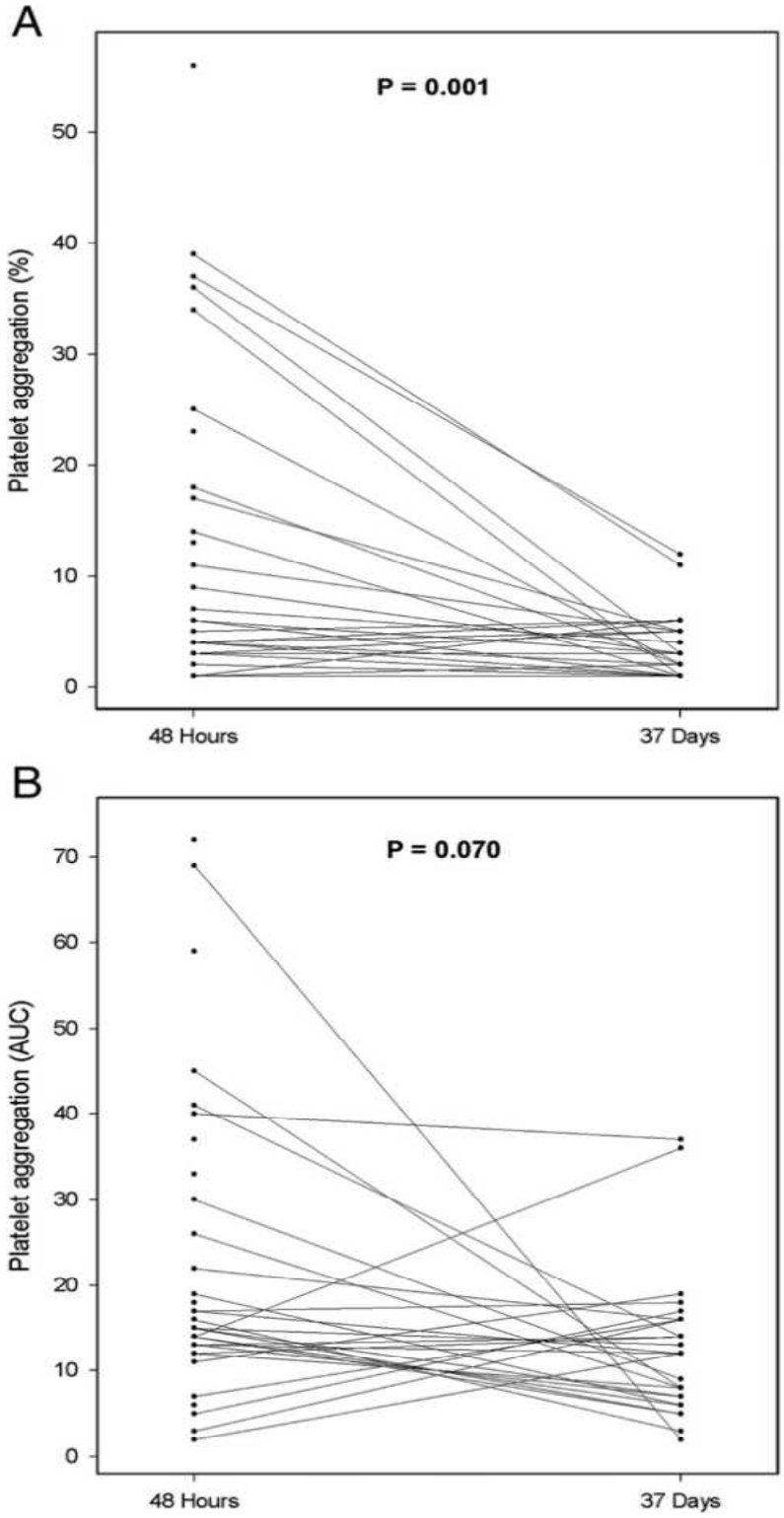

Abbildung 12: Individuelle Veränderungen der AA-induzierten Thrombozytenreaktivität bei Patienten mit Myokardinfarkt im Zeitverlauf.
Arachidonsäure-induzierte Thrombozytenaggregation 48 Stunden und 37 Tage nach Stentimplantation, gemessen mit (A) Lichttransmissionsaggregometrie (LTA) und mit (B) Impedanzaggregometrie (MEA) [115]

3.2.4 Prädiktoren der residuellen Thrombozytenreaktivität

Um mögliche Prädiktoren der residuellen Thrombozytenreaktivität herauszufinden, wurden folgende Faktoren in eine univariate Regressionsanalyse einbezogen: Thrombozyten- und Leukozytenzahl, Hämoglobin (Hb), C-reaktives Protein (CRP), Fibrinogen, D-Dimere, maximale Erhöhung der Kreatinkinase (Maximum CK), linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF), Diabetes mellitus, Hyperlipoproteinämie (HLP), arterieller Hypertonus, Einnahme von Statinen und GPIIb/IIIa-Rezeptorantagonisten sowie die Zugehörigkeit zur Infarkt-Gruppe (akuter Myokardinfarkt).

Es zeigte sich, dass erhöhte Plasma-Spiegel an Fibrinogen und C-reaktivem Protein bei Patienten aus der Versuchsgruppe bei der univariaten Regressionsanalyse statistisch signifikant mit einer erhöhten residuellen Thrombozytenreaktivität assoziiert waren (Tabelle 7).

Es fand sich zwischen keinem der erhobenen Basisbefunde (s. Patientencharakteristika, Tabelle 1, Seite 27) und den verschiedenen Messergebnissen der Thrombozytenfunktion eine unabhängige Assoziation.

Tabelle 7: Univariate Regressionsanalyse der Einflussgrößen, die möglicherweise die Thrombozytenreaktivität 48 Stunden nach Stentimplantation beeinflussen [115].
Beta ist der standardisierte Regressionskoeffizient der relativen Effektivität der unabhängigen auf die abhängige Variable. Signifikante Interaktionen sind fett gedruckt.

	CRP/P		Fibrinogen/P		D-Dimere/P		MI-Gruppe	
	Beta	p-Wert	Beta	p-Wert	Beta	p-Wert	Beta	p-Wert
LTA								
ADP 5µM	**0,45**	**<0,001**	**0,39**	**0,001**	-0,13	0,033	**0,31**	**0,011**
ADP 2, 5µM	**0,43**	**<0,001**	**0,40**	**0,001**	-0,14	0,273	**0,35**	**0,004**
AA	**0,55**	**<0,001**	**0,43**	**<0,001**	-0,05	0,679	**0,39**	**0,010**
MEA								
ADPtest	**0,37**	**0,003**	**0,25**	**0,046**	-0,09	0,515	**0,34**	**0,005**
ADPtest HS	**0,39**	**0,001**	**0,25**	**0,046**	-0,09	0,817	**0,44**	**<0,001**
ASPItest	**0,37**	0,002	0,40	**0,001**	-0,08	0,539	**0,29**	**0,018**

	Hb		Statine		GPIIb/IIIa		HLP	
	Beta	p-Wert	Beta	p-Wert	Beta	p-Wert	Beta	p-Wert
LTA								
ADP 5µM	-0,15	0,231	0,21	0,087	0,12	0,344	0,02	0,877
ADP 2, 5µM	-0,17	0,172	0,16	0,191	0,13	0,315	-0,007	0,592
AA	**-0,25**	**0,045**	0,08	0,521	**0,29**	**0,015**	0,11	0,403
MEA								
ADPtest	-0,05	0,667	0,06	0,651	0,19	0,114	0,05	0,711
ADPtest HS	-0,10	0,435	-0,09	0,500	0,22	0,076	0,16	0,246
ASPItest	-0,16	0,216	-0,02	0,565	**0,31**	**0,010**	0,12	0,374

	Maximum CK/P		Thrombo/B		Leuko/B	
	Beta	p-Wert	Beta	p-Wert	Beta	p-Wert
LTA						
ADP 5µM	0,14	0,250	-0,05	0,667	-0,03	0,812
ADP 2, 5µM	0,15	0,223	-0,04	0,767	-0,05	0,704
AA	**0,395**	**0,001**	0,04	0,759	**0,27**	**0,030**
MEA						
ADPtest	**0,26**	**0,038**	0,23	0,094	0,03	0,806
ADPtest HS	0,21	0,094	0,22	0,094	-0,01	0,987
ASPItest	0,21	0,101	0,23	0,06	-0,08	0,555

	Diabetes		Hypertonus		LVEF	
	Beta	p-Wert	Beta	p-Wert	Beta	p-Wert
LTA						
ADP 5µM	0,14	0,264	0,11	0,402	-0,18	0,15
ADP 2, 5µM	0,16	0,198	0,15	0,242	**-0,28**	**0,022**
AA	0,05	0,699	0,20	0,905	**-0,30**	**0,013**
MEA						
ADPtest	0,22	0,028	0,13	0,288	-0,12	0,334
ADPtest HS	**0,26**	**0,037**	0,05	0,69	-0,21	0,991
ASPItest	0,04	0,753	0,08	0,532	-0,10	0,440

Bei der anschließenden schrittweisen multivariaten Regressionsanalyse mit den Faktoren CRP/P, Fibrinogen/P bei Patienten aus der Versuchsgruppe (Tabelle 8) wichen die Ergebnisse in Abhängigkeit vom verwendeten Testansatz voneinander ab, jedoch wurde CRP bei allen Testansätzen mit Ausnahme von ASPItest und ADPtest als der einzige unabhängige Prädiktor für die residuelle Thrombozytenreaktivität identifiziert.

Tabelle 8: Multiple Regressionsanalyse der Faktoren, die signifikant mit der residuellen Thrombozytenreaktivität 48 Stunden nach koronarer Stentimplantation assoziiert waren.
Beta ist der standardisierte Regressionskoeffizient, der den relativen Effekt der unabhängigen auf die abhängige Variable aufzeigt.

	CRP/P		Fibrinogen/P		MI-Gruppe	
	Beta	p-Wert	Beta	p-Wert	Beta	p-Wert
LTA						
ADP 5µM	0,46	<0,001	-	-	-	-
ADP 2, 5µM	0,43	<0,001	-	-	-	-
AA	0,56	<0,001	-	-	-	-
MEA						
ADPtest	0,38	0,020	-	-	-	-
ADPtest HS	-	-	0,27	0,030	0,34	0,060
ASPItest	-	-	0,40	0,001	-	-

3.2.5 Komplikationen

Zwischen der ersten Verlaufskontrolle nach 48 Stunden und der zweiten nach durchschnittlich 37 Tagen erlitten zwei Patienten aus der Versuchsgruppe (akuter Myokardinfarkt) einen erneuten Myokardinfarkt – einer von ihnen mit nachfolgend tödlichem Ausgang kardiovaskulärer Genese. Außerdem trat in der Versuchsgruppe ein nichttödlicher zerebrovaskulärer Schlaganfall auf. Ein weiterer Patient aus dieser Gruppe erlitt ein akutes Koronarsyndrom, das eine nicht auf die Zielläsion gerichtete Revaskularisation erforderte. Die einzige Komplikation im Zusammenhang mit einer Intervention war eine nichttödliche Blutung an der Punktionsstelle, die eine Bluttransfusion nach der primären Koronarintervention erforderlich machte. Allerdings war die Studie nicht auf den Nachweis eines möglichen Zusammenhangs zwischen Thrombozytenreaktivität und Komplikationen ausgerichtet und die Probandenanzahl entsprechend zu gering um einen solchen nachzuweisen.

3.3 Vergleich der Methoden LTA und MEA

Wir untersuchten die Korrelation zwischen LTA und MEA sowie deren Übereinstimmung hinsichtlich der Identifikation von Patienten mit erhöhter Thrombozytenreaktivität. Da die Ergebnisse der LTA und der MEA in unterschiedlichen Einheiten angegeben werden, wurden die Aggregations-Werte durch Dichotomisierung an der 75 %-Perzentile transformiert. Das 4. Quartil entspricht hierbei der höchsten Thrombozytenreaktivität.

3.3.1 Korrelationen zwischen LTA und MEA, Spearman'scher Rangkorrelationskoeffizient

Die folgende Übersicht zeigt die Berechnungen mit Hilfe des Spearman'schen Rangkorrelationskoeffizienten. Die Koeffizienten deuteten mit Werten zwischen R=0,18 und R=0,35 auf einen bestenfalls moderaten Zusammenhang. Allerdings waren die Zusammenhänge in allen drei Fällen statistisch signifikant ($p < 0,05$).

Tabelle 9: Methodenvergleich LTA vs. MEA, Spearman'scher Rangkorrelationskoeffizient R

LTA vs. MEA	Korrelation (R, p, n)
2,5 µM ADP LTA vs. ADPtest MEA	R=0,341; p < 0,001, n=133
5 µM ADP LTA vs. ADPtest HS MEA	R=0,182; p = 0,036, n=134
AA LTA vs. ASPItest MEA	R=0,351; p < 0,001, n=134

3.3.2 Cohens Kappa

Die folgende Übersicht zeigt die Ergebnisse der Berechnungen des Cohen-Kappa-Tests zur Übereinstimmung von LTA und MEA hinsichtlich der Identifikation von Patienten mit erhöhter Thrombozytenreaktivität (4. Quartile).

Lediglich für 2,5 µM LTA vs. ADPtest MEA zeigte Cohens Kappa mit 0,49 eine moderate Übereinstimmung der Testergebnisse an. Dieser Zusammenhang war mit $p < 0,001$ auch deutlich statistisch signifikant.

Für 5 µM ADPtest LTA vs. ADPtest HS MEA wurde eine leichte Übereinstimmung (Kappa = 0,24) und für AA LTA vs. ASPItest MEA nur eine geringe Übereinstimmung (Kappa = 0,15) beider Messverfahren festgestellt.

Tabelle 10: Ergebnisse des Cohens Kappa-Tests

LTA vs. MEA	Cohens Kappa (Kappa, p, n)
2,5 µM ADP LTA vs. ADPtest MEA	Kappa=0,487, p < 0,001, n=145
5 µM ADP LTA vs. ADPtest HS MEA	Kappa= 0,243, p = 0,003, n=145
AA LTA vs. ASPItest MEA	Kappa=0,145, p=0,081, n=145

4 Diskussion

Die perkutane transluminale Koronarangioplastie (PTCA) mit Stentimplantation zur Behandlung der koronaren Herzerkrankung hat in den letzten 20 Jahren an Bedeutung zugenommen und spielt heute eine zentrale Rolle bei der Versorgung von signifikanten Koronarstenosen [116]. Es konnte gezeigt werden, dass die Langzeit-Überlebensraten von Patienten mit koronarer Herzkrankheit nach PTCA mit Stentimplantation und nach koronarer Bypass-Operation vergleichbar sind [117].

Ein Risiko während und im Verlauf nach PTCA mit Stentimplantation, stellen thromboischämische Komplikationen dar. Diese können einerseits durch die Grunderkrankung ausgelöst werden können. Andererseits bergen PTCA und Stentimplantation selbst – unabhängig von der Art des eingesetzten Stents – ein hohes Risiko thrombotischer Komplikationen [75; 118; 119; 120; 121; 122]. Daher ist eine wirksame Inhibition der Thrombozytenaktivität unverzichtbar, und nach den aktuellen Empfehlungen der Fachgesellschaften wird hierfür im Allgemeinen eine Kombination aus Clopidogrel und Acetylsalicylsäure verwendet. ASS blockiert die Thrombozyten irreversibel durch Hemmung der thrombozytären Cyclooxygenase COX I, während Clopidogrel die ADP-induzierte Aktivierung des Fibrinogen-Rezeptors GPIIb/IIIa irreversibel hemmt.

Aktuelle Richtlinien empfehlen, die antithrombozytäre Therapie – insbesondere im Rahmen eines akuten Koronarsyndroms - mit einer hohen Aufsättungsdosis („loading dose“) von 300 mg oder 600 mg Clopidogrel sowie 100mg ASS (bei Myokardinfarkt 500mg ASS) einzuleiten, um einen raschen Wirkeintritt zu gewährleisten. Die Therapie sollte mit einer täglichen Erhaltungsdosis von 75 mg Clopidogrel und 100 mg ASS fortgesetzt werden [71; 86; 123; 124]. Bis heute fehlen aber Kriterien, um besondere Risikopatienten zu identifizieren, bei denen Modifikationen der Standarddosierungen erforderlich sind.

Es wurde gezeigt, dass trotz einer Leitlinien-gerechten antithrombozytären Therapie ein Teil der Patienten weiterhin eine gesteigerte Thrombozytenreaktivität aufweist [91; 95; 96] und eine solche residuelle Thrombozytenreaktivität mit einem erhöhten Risiko von kardiovaskulären Ereignissen assoziiert ist [99; 125; 126; 127; 128; 129; 130]. In diesem Zusammenhang spricht man häufig von einer „Resistenz“ gegenüber Clopidogrel oder ASS [131]. De facto kann eine residuelle Thrombozytenreaktivität aber sowohl auf

einem reduzierten Ansprechen auf die antithrombozytäre Therapie, als auch einer bereits basal erhöhten Thrombozytenreaktivität, oder einer Kombination aus Beidem beruhen [105]. so dass es richtiger erscheint, die Bezeichnung „erhöhte residuelle Thrombozytenreaktivität“ zu verwenden und den Begriff „Resistenz“ für solche Fälle zu verwenden, bei denen nachgewiesenermaßen die verabreichte Medikation keinen pharmakologischen Effekt besitzt [132; 133].

Im Rahmen eines Myokardinfarktes kommt es zu einer Thrombozytenaktivierung, wobei Geisler et al. zeigen konnten, dass die Thrombozytenreaktivität im akuten Infarktstadium, trotz dualer Thrombozyteninhibition mit Clopidogrel und ASS, erhöht bleibt [134]. Dieser Befund deckt sich mit vorangegangenen Studien, die den Nutzen einer zusätzlichen Thrombozyteninhibition im Sinne einer periinterventionellen Applikation von GPIIb IIIa-Antagonisten bei akutem Myokardinfarkt demonstrierten, was sich auch in den aktuellen Therapieleitlinen ausdrückt [64; 135]. Allerdings sind prothrombotische und proinflammatorische Faktoren noch Monate über das akute Infarktstadium hinaus nachweisbar – ein Umstand dem die therapeutische Praxis derzeit keine Rechnung trägt [104; 107; 108; 109; 110]: In den Tagen und Wochen nach einem akuten Infarkt-Ereignis entspricht das antithrombozytäre Regime dem nach elektiver Intervention.

Vor diesem Hintergrund untersuchten wir die Hypothese, dass unter Therapie mit ASS und Clopidogrel eine gesteigerte Thrombozytenreaktivität über das akute Infarktstadium hinaus fortbesteht, was eine theoretische Grundlage für eine intensivierte antithrombozytäre Erhaltungstherapie darstellen würde.

Als Patientenkollektiv wurden Patienten gewählt, die sich einer PTCA mit Stentimplantation unterzogen – entweder aufgrund eines akuten Myokardinfarkts (Versuchsgruppe) oder bei elektiver Indikation (Kontrollgruppe).

Die *in-vitro* Thrombozytenaggregation - induziert mit Adenosin-5-Diphosphat (ADP) und Arachidonsäure (AA) - wurde hier mittels Lichttransmissionsaggregometrie nach Born (LTA) – des bis heute als Goldstandard erachteten Tests zur Prüfung der Thrombozytenfunktion – und der Multiplen-Elektroden-Impedanz-Aggregometrie (MEA), einem neueren Schnelltest, untersucht.

Die wesentliche Erkenntnis dieser Studie ist, dass sowohl die ADP-induzierte als auch die AA-induzierte residuelle Thrombozytenaggregation, bei Infarktpatienten noch 48

Stunden nach Stentimplantation signifikant erhöht war. Zu einem vergleichbaren Ergebnis waren auch Geissler et al. (2008) gekommen, die zeigten, dass das akute Koronarsyndrom unabhängig mit einer erhöhten residuellen Thrombozytenreaktivität assoziiert ist [134]. Allerdings waren in jener Studie die Tests zur Thrombozytenfunktion wenige Stunden nach Diagnose des Myokardinfarkts gestellt worden und lassen daher nur Rückschlüsse auf den perakuten Zeitraum des Myokardinfarktes zu.

Da aktuelle Richtlinien bereits eine intensivierte antithrombozytäre Therapie in Form von GPIIb/IIIa-Rezeptorantagonisten für 12-24 Stunden nach PTCA mit Stentimplantation bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt empfehlen (NSTEMI oder STEMI) [135], wurde in der vorliegenden Untersuchung die Thrombozytenreaktivität zu späteren Zeitpunkten, und zwar 48 Stunden und 30 Tage nach Stentimplantation, gemessen. Für diesen Zeitraum gelten für Myokardinfarkt- und Elektivpatienten identische Empfehlungen zur antithrombozytären Erhaltungstherapie ohne Berücksichtigung der klinischen Begleitumstände [71; 86; 123; 124].

In der vorliegenden Untersuchung zeigten sämtliche Testverfahren 48 Stunden nach Stentimplantation eine anhaltend erhöhte residuelle Thrombozytenreaktivität in der Versuchsgruppe. Darüber hinaus deutete der einheitliche numerische Trend nach 30 Tagen daraufhin hin, dass die residuelle Thrombotytenreaktivität auf ADP noch weiter fortbesteht.

Da die Reaktivität der Thrombozyten naturgemäß vor dem jeweiligen ischämischen Ereignis nicht gemessen werden kann, bleibt unklar, ob der Myokardinfarkt im Einzelfall als Ergebnis oder als Ursache einer gesteigerten Thrombozytenreaktivität zu werten ist. Bei Annahme der letztgenannten Möglichkeit würde man eine Normalisierung der Thrombozytenreaktivität im zeitlichen Verlauf erwarten. Hier konnte dies nur für die AA-induzierte Thrombozytenreaktivität gezeigt werden. Allerdings kann nicht ausgeschlossen werden, dass sich bei einem verlängerten Beobachtungszeitraum und einer größeren Stichprobe ebenso ein signifikanter Abfall der ADP-induzierten Thrombozytenaggregation zu detektieren wäre.

Wie erwähnt, sind das optimale antithrombozytäre Therapieregime sowie der optimale Bereich der Thrombozytenreaktivität im Hinblick auf thromboischämische Komplikationen bisher nicht bekannt [83]. Da aber eine erhöhte Thrombozytenreaktivität, gemessen

mit LTA oder MEA, mit thromboischämischen Komplikationen und kardiovaskulärem Tod assoziiert sind [99; 125; 130], legen die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung nahe, dass die Wirkung der antithrombozytären Standardtherapie bei Patienten nach akutem Myokardinfarkt nicht ausreichend ist.

Es konnte bereits gezeigt werden, dass eine Verdopplung der Clopidogrel-Erhaltungsdosis die antithrombozytäre Wirkung deutlich erhöht [136] beziehungsweise die Häufigkeit kardiovaskulärer Ereignisse und Stentthrombosen reduziert [137; 138]. Auch die Gabe des neuen potenteren Thienopyridins Prasugrel hat im Vergleich mit der Clopidogrel-Standardtherapie eine Reduktion thromboischämischer Komplikationen bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt zur Folge, wie die TRITON-TIMI 38-Studie zeigte [84]. Allerdings besteht hier – wie auch bei der Clopidogrel-Hochdosistherapie – die Neigung zu gravierenden, zum Teil schwer beherrschbaren Blutungen. Dies unterstreicht die Notwendigkeit der Suche nach einem geeigneten Therapieregime, das eine optimale Balance zwischen thromboischämischen und hämorrhagischen Komplikationen gewährleistet [139; 140; 141; 142]. Vor diesem Hintergrund sind die kürzlich publizierten Ergebnisse der PLATO-Studie [143] über den neuen P_2Y_{12}-Rerzeptorantagonisten Ticagrelor vielversprechend.

Wir gingen zudem der Frage nach, welche Faktoren die residuelle Thrombozytenaktivität beeinflussen. Die beiden Patientengruppen der vorliegenden Untersuchung wiesen per definitionem eine heterogene Struktur im Hinblick auf ihre Basisbefunde auf. So war, wie erwartet, die durchschnittliche linksventrikuläre Ejektionsfraktion bei den Infarkt-Patienten signifikant erniedrigt. Eine lineare Regressionsanalyse konnte aber weder hierfür, noch für die anderen Basisbefunde einen signifikanten Zusammenhang mit der residuellen Thrombozytenreaktivität detektieren.

Wir konnten jedoch belegen, dass der Myokardinfarkt selbst eine unabhängige Einflussgröße darstellt, wie dies auch andere Autoren bereits, wenn auch im Bezug auf frühere Messzeitpunkte, festgestellt hatten [104; 107; 108; 109; 110]. Darüber hinaus waren die Parameter C-reaktives Protein (CRP) und Fibrinogen statistisch signifikant mit der residuellen Thrombozytenreaktivität assoziiert. Auch dieses Ergebnis deckt sich mit bereits früher veröffentlichen Daten [144; 145]. Die schrittweise lineare Regressionsanalyse identifizierte das C-reaktive Protein als die unabhängige Variable mit dem stärksten Einfluss auf die residuelle Thrombozytenreaktivität. Der Zusammenhang der

Akutphase-Proteine CRP und Fibrinogen mit der residuellen Thrombozytenreaktivität deutet darauf hin, dass diese Faktoren möglicherweise eine – noch nicht näher definierte – Rolle im Aktivierungsmechanismus spielen. Die Ergebnisse der Regressionsanalyse müssen mit Vorsicht interpretiert werden, da sich eine Ursache-Wirkungs-Beziehung nicht mit Sicherheit belegen lässt. – insbesondere, da Interaktionen zwischen verschiedenen unabhängigen Einflussfaktoren (wie CRP, Fibrinogen und Myokardinfarkt) angenommen werden müssen. Darüber hinaus könnte eine erhöhte CRP-Konzentrationen sowohl Ursache, als auch Folge einer gesteigerten Thrombozytenaktivierung sein - wahrscheinlich besteht eine bidirektionale Interaktion. Das gleiche gilt für die Variablen Fibrinogen und Myokardinfarkt, sodass eine Einteilung in abhängige und unabhängige Variablen praktisch wohl nicht haltbar ist.

Da hier die Thrombozytenreaktivität vor Beginn der antithrombozytären Therapie nicht untersucht wurde, konnte nicht mit Bestimmtheit festgelegt werden, ob die gesteigerte Thrombozytenreaktivität bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt bei Zustand nach PTCA und Stentimplantation einem geringeren Ansprechen auf die antithrombozytäre Therapie oder einer primär erhöhten Thrombozytenreaktivität vor Therapiebeginn geschuldet ist. In jedem Fall ist jedoch eine erhöhte residuelle Thrombozytenreaktivität mit Komplikationen vergesellschaftet [99; 125; 126; 128; 130]. D.h., dass wiederholte Bestimmungen der residuellen Thrombozytenreaktivität nicht nur zur Kontrolle des Therapieansprechens, sondern auch als sinnvoller prognostischer Faktor in Erwägung gezogen werden können.

In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage nach einer Nachweismethode der Thrombozytenreaktivität, die – auch im Rahmen der Notfalldiagnostik – als Point-of-care-Verfahren schnell, einfach und kostengünstig durchgeführt werden könnte. Als Goldstandard für Untersuchung der Thrombozytenfunktion gilt bis dato die Lichttransmissionsaggregometrie. Allerdings ist die LTA für die Routinediagnostik ungeeignet, da sie sehr zeitaufwändig und nur wenig standardisiert ist und zudem nur durch qualifiziertes Laborpersonal durchgeführt werden kann [146]. Die LTA-Untersuchungen werden an Thrombozyten-reichem Plasma (PRP) durchgeführt, d.h. durch schrittweises Zentrifugieren müssen die Thrombozyten von anderen Blutzellen abgetrennt werden. Neben der zeitaufwändigen Gewinnung des PRP ist es als negativ

anzusehen, dass mit Hilfe der LTA die Thrombozyten nicht in ihrem natürlichen zellulären Milieu sondern in einer artifiziellen Umgebung untersucht werden [147; 148].

Daher wurden in den letzten Jahren eine Reihe von Point-of-care-Verfahren entwickelt, die eine standardisierte, unkompliziert durchzuführende Untersuchung der Thrombozytenfunktion im Vollblut ermöglichen. Keines von ihnen konnte sich allerdings bisher im klinischen Alltag etablieren [149]. Unter den neuen Methoden befindet sich die hier eingesetzte Multiple electrode aggregometry (MEA), die eine Testung der Thrombozytenfunktion in etwa zehn Minuten aus dem Vollblut erlaubt. Die Methode wurde an gesunden Probanden auch für Messungen nach der Anwendung von Clopidogrel und Acetylsalicylsäure validiert [150]. In jüngster Zeit wurden Untersuchungen durchgeführt, die Korrelationen zwischen den Ergebnissen von Thrombozytenfunktionstests mit dem klinischen Ergebnis aufdecken sollen. So konnte zum Beispiel speziell für die LTA und die MEA – die in dieser Arbeit verwendeten Methoden – gezeigt werden, dass eine gesteigerte residuelle Thrombozytenreaktivität mit kardiovaskulären Komplikationen unabhängig korreliert ist [125; 129; 130] [147].

In der vorliegenden Untersuchung wurde eine signifikante Korrelation zwischen LTA und MEA unter Verwendung verschiedener Agonisten vorgefunden. Allerdings war der absolute Grad der Korrelation mit Werten zwischen R=0,18 und R=0,35 bestenfalls mäßig. Auch bestand im Hinblick auf die Identifizierung von Patienten mit einer hohen residuellen Thrombozytenreaktivität (definiert als 4. Quartile der Messwerte) zwischen beiden Tests nur eine moderate Übereinstimmung.

Die Frage, ob sich die MEA als Routinemethode für die Überwachung der Thrombozytenfunktion bei Patienten mit einem Myokardinfarkt beziehungsweise PTCA und Stentimplantation eignet, kann daher auf der Basis der hier erhobenen Daten nicht geklärt werden. In jedem Fall sind die Ergebnisse beider Verfahren zu unterschiedlich, um einen beispielsweise mittels MEA erhobenen Befund als Basis für eine LTA-Verlaufskontrolle heranziehen zu können und umgekehrt. Trotzdem ist es beachtenswert, dass die hier mit den sechs verschiedenen Testansätzen erlangten Ergebnisse hinsichtlich des entscheidenden Befundes einer erhöhten residuellen Thrombozytenaktivität 48h nach Myokardinfarkt absolut konsistent sind.

Schlussfolgerungen:

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung zeigen, dass die Thrombozytenreaktivität bei Patienten nach koronarer Stentimplantation bei Myokardinfarkt im Vergleich zu Patienten nach elektiver PTCA mit Stentimplantation trotz der Standardtherapie mit Clopidogrel und ASS erhöht ist. Diese gesteigerte Thrombozytenreaktivität ist nicht auf die akute Phase eines Myokardinfarktes begrenzt, sondern sie besteht noch mindestens 48 Stunden nach Stentimplantation. Diese Erkenntnis ist von besonderer Bedeutung, da gegenwärtige Leitlinien, von den 12-24 Stunden nach Koronarintervention abgesehen, eine einheitliche antithrombozytäre Erhaltungstherapie empfehlen – ungeachtet der klinischen Konstellation. Da die hier beobachtete, anhaltend erhöhte Thrombozytenaktivität einen unabhängigen Prädiktor für kardiovaskulär bedingte Todesfälle darstellt [125; 129; 151], liefern unsere Ergebnisse eine rationale Basis für die Intensivierung der antithrombozytären Erhaltungstherapie nach Myokardinfarkt.

5 Zusammenfassung

Einleitung: Die Thrombozyten-Aktivierung spielt eine entscheidende Rolle in der Pathogenese der koronaren Herzerkrankung und der Pathophysiologie des akuten Koronarsyndroms. Dementsprechend bildet die antithrombozytäre Therapie einen Grundpfeiler der Behandlung einer koronaren Herzerkrankung. Gegenwärtig gilt die duale Therapie mit Clopidogrel und Acetylsalicylsäure nach perkutaner transluminaler koronarer Angioplastie (PTCA) als Goldstandard. Bezüglich der Erhaltungsdosis unterscheiden aktuelle Leitlinien nicht zwischen Patienten mit akutem Myokardinfarkt und elektiven Patienten.
In der vorliegenden Untersuchung sollte gezeigt werden, dass bei akutem Myokardinfarkt die residuelle Thrombozytenreaktivität anhaltend gesteigert ist. Dies würde - in anbetracht der Tatsache, dass eine gesteigerte residuelle Thrombozytenreaktivität mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko nach PTCA assoziiert ist - eine theoretische Grundlage für Intensivierung der antithrombozytären Erhaltungstherapie darstellen.

Material und Methoden: Insgesamt wurden 66 Patienten nach koronarer Stentimplantation bei Myokardinfarkt (Versuchsgruppe, n = 36) oder nach elektiver Stentimplantation (Kontrollgruppe, n = 30) in diese prospektive, kontrollierte Studie eingeschlossen. Die Adenosin-5-diphosphat (ADP)- und Arachidonsäure (AA)-induzierte Thrombozytenreaktivität unter Erhaltungstherapie mit Clopidogrel (75 mg) und Acetylsalicylsäure (100 mg) wurde 48 h und 30 d nach koronarer Stentimplantation gleichzeitig unter Verwendung der Lichttransmissionsaggregometrie (LTA) und der multiplen Elektroden-Impedanzaggregometrie (MEA) analysiert.

Ergebnisse: 48h nach Stentimplantation zeigten sämtliche Testverfahren eine signifikant erhöhte residuelle Thrombozytenreaktivität in der Versuchsgruppe – sowohl hinsichtlich ADP als auch hinsichtlich Arachidonsäure (AA). Die ADP-induzierte Thrombozytenreaktivität war auch nach durchschnittlich 37 Tagen noch durchgehend, aber nicht statistisch signifikant erhöht. Dagegen fiel die AA-induzierte Thrombozytenreaktivität signifikant ab und hatte sich bis zum Zeitpunkt der Verlaufskontrolle normalisiert.
Myokardinfarkt, C-reaktives Protein und Fibrinogen erwiesen sich als Prädiktoren für eine gesteigerte Thrombozytenreaktivität 48 h nach koronarer Stentimplantation.

Schlussfolgerung: Patienten, die einer koronaren Stentimplantation bei akutem Myokardinfarkt unterzogen werden, weisen eine gesteigerte residuelle Thrombozytenreaktivität auf, welche mindestens 48 h nach koronarer Stentimplantation anhält. Diese Erkenntnis bietet eine Begründung für eine weitergehende intensivierte antithrombozytäre Therapie nach Myokardinfarkt.

6 Literaturverzeichnis

[1] Sibbing D, Stegherr J, Braun S, Mehilli J, Schulz S, Seyfarth M et al. A double-blind, randomized study on prevention and existence of a rebound phenomenon of platelets after cessation of clopidogrel treatment. J Am Coll Cardiol (2010);55:558-65.

[2] Laufs U (2006): Pathophysiologie der koronaren Herzerkrankung. (Hrsg.): Klinische Pathophysiologie. 9. Aufl.; S. 523-545. Stuttgart: Thieme.

[3] Rutsch W, Gliech V, Dubel HP, Borges A, Theres H, Laule M et al. [Standards in interventional therapy of coronary artery disease]. Herz (2002);27:481-501.

[4] van Buuren F, Horstkotte D. [21st report about the statistics of the heart catheterization laboratory in the German Federal Republic. Results of the joint inquiry of the Commission for Clinical Cardiology and of the Working Groups for Interventional Cardiology and Angiology of the German Society for Cardiology and Circulatory Research in the year 2004]. Clin Res Cardiol (2006);95:383-7.

[5] Grech ED. ABC of interventional cardiology: percutaneous coronary intervention. II: the procedure. BMJ (2003);326:1137-40.

[6] Wenaweser P, Hess O. Stent thrombosis is associated with an impaired response to antiplatelet therapy. J Am Coll Cardiol (2005);46:CS5-6.

[7] Iakovou I, Schmidt T, Bonizzoni E, Ge L, Sangiorgi GM, Stankovic G et al. Incidence, predictors, and outcome of thrombosis after successful implantation of drug-eluting stents. Jama (2005);293:2126-30.

[8] Gawaz M. Das Blutplättchen. Stuttgart: Gawaz, Meinrad, 1999.

[9] Ruggeri ZM. Platelet and von Willebrand factor interactions at the vessel wall. Hamostaseologie (2004);24:1-11.

[10] Andrews RK, Lopez JA, Berndt MC. Molecular mechanisms of platelet adhesion and activation. Int J Biochem Cell Biol (1997);29:91-105.

[11] de Groot PG, Sixma JJ. Platelet adhesion. Br J Haematol (1990);75:308-12.

[12] Siess W. Molecular mechanisms of platelet activation. Physiol Rev (1989);69:58-178.

[13] Gawaz M, Neumann FJ, Schomig A. Evaluation of platelet membrane glycoproteins in coronary artery disease : consequences for diagnosis and therapy. Circulation (1999);99:E1-E11.

[14] Gawaz MP, Loftus JC, Bajt ML, Frojmovic MM, Plow EF, Ginsberg MH. Ligand bridging mediates integrin alpha IIb beta 3 (platelet GPIIB-IIIA) dependent homotypic and heterotypic cell-cell interactions. J Clin Invest (1991);88:1128-34.

[15] Ginsberg MH, Du X, O'Toole TE, Loftus JC. Platelet integrins. Thromb Haemost (1995);74:352-9.

[16] Plow EF, D'Souza SE, Ginsberg MH. Ligand binding to GPIIb-IIIa: a status report. Semin Thromb Hemost (1992);18:324-32.

[17] Bennett JS. Structure and function of the platelet integrin alphaIIbbeta3. J Clin Invest (2005);115:3363-9.

[18] Critchley DR. Focal adhesions - the cytoskeletal connection. Curr Opin Cell Biol (2000);12:133-9.

[19] Yang J, Wu J, Jiang H, Mortensen R, Austin S, Manning DR et al. Signaling through Gi family members in platelets. Redundancy and specificity in the regulation of adenylyl cyclase and other effectors. J Biol Chem (2002);277:46035-42.

[20] Storey RF. Biology and pharmacology of the platelet P2Y12 receptor. Curr Pharm Des (2006);12:1255-9.

[21] Hechler B, Leon C, Vial C, Vigne P, Frelin C, Cazenave JP et al. The P2Y1 receptor is necessary for adenosine 5'-diphosphate-induced platelet aggregation. Blood (1998);92:152-9.

[22] Mangin P, Ohlmann P, Eckly A, Cazenave JP, Lanza F, Gachet C. The P2Y1 receptor plays an essential role in the platelet shape change induced by collagen when TxA2 formation is prevented. J Thromb Haemost (2004);2:969-77.

[23] Fabre JE, Nguyen M, Latour A, Keifer JA, Audoly LP, Coffman TM et al. Decreased platelet aggregation, increased bleeding time and resistance to thromboembolism in P2Y1-deficient mice. Nat Med (1999);5:1199-202.

[24] Cantley LC. The phosphoinositide 3-kinase pathway. Science (2002);296:1655-7.

[25] Andre P, Delaney SM, LaRocca T, Vincent D, DeGuzman F, Jurek M et al. P2Y12 regulates platelet adhesion/activation, thrombus growth, and thrombus stability in injured arteries. J Clin Invest (2003);112:398-406.

[26] Foster CJ, Prosser DM, Agans JM, Zhai Y, Smith MD, Lachowicz JE et al. Molecular identification and characterization of the platelet ADP receptor targeted by thienopyridine antithrombotic drugs. J Clin Invest (2001);107:1591-8.

[27] Hollopeter G, Jantzen HM, Vincent D, Li G, England L, Ramakrishnan V et al. Identification of the platelet ADP receptor targeted by antithrombotic drugs. Nature (2001);409:202-7.

[28] Jin J, Quinton TM, Zhang J, Rittenhouse SE, Kunapuli SP. Adenosine diphosphate (ADP)-induced thromboxane A(2) generation in human platelets requires coordinated signaling through integrin alpha(IIb)beta(3) and ADP receptors. Blood (2002);99:193-8.

[29] Michelson AD. P2Y12 antagonism: promises and challenges. Arterioscler Thromb Vasc Biol (2008);28:s33-8.

[30] Shankar H, Kahner B, Kunapuli SP. G-protein dependent platelet signaling--perspectives for therapy. Curr Drug Targets (2006);7:1253-63.

[31] Bhatt DL, Topol EJ. Scientific and therapeutic advances in antiplatelet therapy. Nat Rev Drug Discov (2003);2:15-28.

[32] Quinn MJ, Fitzgerald DJ. Ticlopidine and clopidogrel. Circulation (1999);100:1667-72.

[33] Offermanns S. Activation of platelet function through G protein-coupled receptors. Circ Res (2006);99:1293-304.

[34] Wada M, DeLong CJ, Hong YH, Rieke CJ, Song I, Sidhu RS et al. Enzymes and receptors of prostaglandin pathways with arachidonic acid-derived versus eicosapentaenoic acid-derived substrates and products. J Biol Chem (2007);282:22254-66.

[35] Angiolillo DJ, Ueno M, Goto S. Basic principles of platelet biology and clinical implications. Circ J (2010);74:597-607.

[36] Davi G, Patrono C. Platelet activation and atherothrombosis. N Engl J Med (2007);357:2482-94.

[37] Brummel KE, Paradis SG, Butenas S, Mann KG. Thrombin functions during tissue factor-induced blood coagulation. Blood (2002);100:148-52.

[38] Mann KG. Thrombin formation. Chest (2003);124:4S-10S.

[39] Heemskerk JW, Bevers EM, Lindhout T. Platelet activation and blood coagulation. Thromb Haemost (2002);88:186-93.

[40] Klages B, Brandt U, Simon MI, Schultz G, Offermanns S. Activation of G12/G13 results in shape change and Rho/Rho-kinase-mediated myosin light chain phosphorylation in mouse platelets. J Cell Biol (1999);144:745-54.

[41] Offermanns S, Laugwitz KL, Spicher K, Schultz G. G proteins of the G12 family are activated via thromboxane A2 and thrombin receptors in human platelets. Proc Natl Acad Sci U S A (1994);91:504-8.

[42] Hung DT, Wong YH, Vu TK, Coughlin SR. The cloned platelet thrombin receptor couples to at least two distinct effectors to stimulate phosphoinositide hydrolysis and inhibit adenylyl cyclase. J Biol Chem (1992);267:20831-4.

[43] Kahn ML, Zheng YW, Huang W, Bigornia V, Zeng D, Moff S et al. A dual thrombin receptor system for platelet activation. Nature (1998);394:690-4.

[44] Leger AJ, Covic L, Kuliopulos A. Protease-activated receptors in cardiovascular diseases. Circulation (2006);114:1070-7.

[45] Langer H, Gawaz M. [The role of platelets for the pathophysiology of acute coronary syndromes]. Hamostaseologie (2006);26:114-8.

[46] Lindemann S, Kramer B, Daub K, Stellos K, Gawaz M. Molecular pathways used by platelets to initiate and accelerate atherogenesis. Curr Opin Lipidol (2007);18:566-73.

[47] Gawaz M. Role of platelets in coronary thrombosis and reperfusion of ischemic myocardium. Cardiovasc Res (2004);61:498-511.

[48] May AE, Seizer P, Gawaz M. Platelets: inflammatory firebugs of vascular walls. Arterioscler Thromb Vasc Biol (2008);28:s5-10.

[49] Lindemann S, Kramer B, Seizer P, Gawaz M. Platelets, inflammation and atherosclerosis. J Thromb Haemost (2007);5 Suppl 1:203-11.

[50] Sami S, Willerson JT. Contemporary treatment of unstable angina and non-ST-segment-elevation myocardial infarction (part 1). Tex Heart Inst J (2010);37:141-8.

[51] Eidt JF, Allison P, Noble S, Ashton J, Golino P, McNatt J et al. Thrombin is an important mediator of platelet aggregation in stenosed canine coronary arteries with endothelial injury. J Clin Invest (1989);84:18-27.

[52] Hirsh PD, Hillis LD, Campbell WB, Firth BG, Willerson JT. Release of prostaglandins and thromboxane into the coronary circulation in patients with ischemic heart disease. N Engl J Med (1981);304:685-91.

[53] Willerson JT. Conversion from chronic to acute coronary heart disease syndromes. Role of platelets and platelet products. Tex Heart Inst J (1995);22:13-9.

[54] Willerson JT, Campbell WB, Winniford MD, Schmitz J, Apprill P, Firth BG et al. Conversion from chronic to acute coronary artery disease: speculation regarding mechanisms. Am J Cardiol (1984);54:1349-54.

[55] Sharis PJ, Cannon CP, Loscalzo J. The antiplatelet effects of ticlopidine and clopidogrel. Ann Intern Med (1998);129:394-405.

[56] Bounameaux Y. [Clinical use of anti-aggregative agents]. Bull Schweiz Akad Med Wiss (1973);29:223-34.

[57] Joyal D, Freihage JH, Cohoon K, Tempelhof M, Leya F, Dieter RS et al. The influence of low (81 mg) versus high (325 mg) doses of ASA on the incidence of sirolimus-eluting stent thrombosis. J Invasive Cardiol (2007);19:291-4.

[58] Smith SC, Jr., Allen J, Blair SN, Bonow RO, Brass LM, Fonarow GC et al. AHA/ACC guidelines for secondary prevention for patients with coronary and other atherosclerotic vascular disease: 2006 update: endorsed by the National Heart, Lung, and Blood Institute. Circulation (2006);113:2363-72.

[59] Coller BS. A new murine monoclonal antibody reports an activation-dependent change in the conformation and/or microenvironment of the platelet glycoprotein IIb/IIIa complex. J Clin Invest (1985);76:101-8.

[60] Faulds D, Sorkin EM. Abciximab (c7E3 Fab). A review of its pharmacology and therapeutic potential in ischaemic heart disease. Drugs (1994);48:583-98.

[61] Mascelli MA, Lance ET, Damaraju L, Wagner CL, Weisman HF, Jordan RE. Pharmacodynamic profile of short-term abciximab treatment demonstrates prolonged platelet inhibition with gradual recovery from GP IIb/IIIa receptor blockade. Circulation (1998);97:1680-8.

[62] Harrington RA, Kleiman NS, Kottke-Marchant K, Lincoff AM, Tcheng JE, Sigmon KN et al. Immediate and reversible platelet inhibition after intravenous administration of a peptide glycoprotein IIb/IIIa inhibitor during percutaneous coronary intervention. Am J Cardiol (1995);76:1222-7.

[63] Kereiakes DJ, Kleiman NS, Ambrose J, Cohen M, Rodriguez S, Palabrica T et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled dose-ranging study of tirofiban (MK-383) platelet IIb/IIIa blockade in high risk patients undergoing coronary angioplasty. J Am Coll Cardiol (1996);27:536-42.

[64] De Luca G, Ucci G, Cassetti E, Marino P. Benefits from small molecule administration as compared with abciximab among patients with ST-segment elevation myocardial infarction treated with primary angioplasty: a meta-analysis. J Am Coll Cardiol (2009);53:1668-73.

[65] Ellis SG, Tendera M, de Belder MA, van Boven AJ, Widimsky P, Janssens L et al. Facilitated PCI in patients with ST-elevation myocardial infarction. N Engl J Med (2008);358:2205-17.

[66] Gurm HS, Tamhane U, Meier P, Grossman PM, Chetcuti S, Bates ER. A comparison of abciximab and small-molecule glycoprotein IIb/IIIa inhibitors in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention: a meta-analysis of contemporary randomized controlled trials. Circ Cardiovasc Interv (2009);2:230-6.

[67] Mehilli J, Kastrati A, Schulz S, Frungel S, Nekolla SG, Moshage W et al. Abciximab in patients with acute ST-segment-elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention after clopidogrel loading: a randomized double-blind trial. Circulation (2009);119:1933-40.

[68] Stone GW, Witzenbichler B, Guagliumi G, Peruga JZ, Brodie BR, Dudek D et al. Bivalirudin during primary PCI in acute myocardial infarction. N Engl J Med (2008);358:2218-30.

[69] Valgimigli M, Campo G, Percoco G, Bolognese L, Vassanelli C, Colangelo S et al. Comparison of angioplasty with infusion of tirofiban or abciximab and with implantation of sirolimus-eluting or uncoated stents for acute myocardial infarction: the MULTISTRATEGY randomized trial. JAMA (2008);299:1788-99.

[70] Van't Hof AW, Ten Berg J, Heestermans T, Dill T, Funck RC, van Werkum W et al. Prehospital initiation of tirofiban in patients with ST-elevation myocardial infarction undergoing primary angioplasty (On-TIME 2): a multicentre, double-blind, randomised controlled trial. Lancet (2008);372:537-46.

[71] Kushner FG, Hand M, Smith SC, Jr., King SB, 3rd, Anderson JL, Antman EM et al. 2009 focused updates: ACC/AHA guidelines for the management of patients with ST-elevation myocardial infarction (updating the 2004 guideline and 2007 focused update) and ACC/AHA/SCAI guidelines on percutaneous coronary intervention (updating the 2005 guideline and 2007 focused update) a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. J Am Coll Cardiol (2009);54:2205-41.

[72] Karow T, Lang-Roth R. Thrombozytenaggregationshemmer. Pulheim: Karow, 2008.

[73] Weber AA, Braun M, Hohlfeld T, Schwippert B, Tschope D, Schror K. Recovery of platelet function after discontinuation of clopidogrel treatment in healthy volunteers. Br J Clin Pharmacol (2001);52:333-6.

[74] Bennett CL, Connors JM, Carwile JM, Moake JL, Bell WR, Tarantolo SR et al. Thrombotic thrombocytopenic purpura associated with clopidogrel. N Engl J Med (2000);342:1773-7.

[75] Maree AO, Fitzgerald DJ. Variable platelet response to aspirin and clopidogrel in atherothrombotic disease. Circulation (2007);115:2196-207.

[76] Lau WC, Gurbel PA, Watkins PB, Neer CJ, Hopp AS, Carville DG et al. Contribution of hepatic cytochrome P450 3A4 metabolic activity to the phenomenon of clopidogrel resistance. Circulation (2004);109:166-71.

[77] Savi P, Pereillo JM, Uzabiaga MF, Combalbert J, Picard C, Maffrand JP et al. Identification and biological activity of the active metabolite of clopidogrel. Thromb Haemost (2000);84:891-6.

[78] Bhatt DL, Bertrand ME, Berger PB, L'Allier PL, Moussa I, Moses JW et al. Meta-analysis of randomized and registry comparisons of ticlopidine with clopidogrel after stenting. J Am Coll Cardiol (2002);39:9-14.

[79] CAPRIE Steering Committee. A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). . Lancet (1996);348:1329-39.

[80] Berger PB, Bell MR, Rihal CS, Ting H, Barsness G, Garratt K et al. Clopidogrel versus ticlopidine after intracoronary stent placement. J Am Coll Cardiol (1999);34:1891-4.

[81] Bertrand ME, Rupprecht HJ, Urban P, Gershlick AH. Double-blind study of the safety of clopidogrel with and without a loading dose in combination with aspirin compared with ticlopidine in combination with aspirin after coronary stenting : the clopidogrel aspirin stent international cooperative study (CLASSICS). Circulation (2000);102:624-9.

[82] Moussa I, Oetgen M, Roubin G, Colombo A, Wang X, Iyer S et al. Effectiveness of clopidogrel and aspirin versus ticlopidine and aspirin in preventing stent thrombosis after coronary stent implantation. Circulation (1999);99:2364-6.

[83] Mehta SR, Bassand JP, Chrolavicius S, Diaz R, Eikelboom JW, Fox KA et al. Dose comparisons of clopidogrel and aspirin in acute coronary syndromes. N Engl J Med (2010);363:930-42.

[84] Wiviott SD, Braunwald E, McCabe CH, Montalescot G, Ruzyllo W, Gottlieb S et al. Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. N Engl J Med (2007);357:2001-15.

[85] Smith SC, Jr., Dove JT, Jacobs AK, Kennedy JW, Kereiakes D, Kern MJ et al. ACC/AHA guidelines of percutaneous coronary interventions (revision of the 1993 PTCA guidelines)--executive summary. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (committee to revise the 1993 guidelines for percutaneous transluminal coronary angioplasty). J Am Coll Cardiol (2001);37:2215-39.

[86] Silber S, Albertsson P, Aviles FF, Camici PG, Colombo A, Hamm C et al. Guidelines for percutaneous coronary interventions. The Task Force for Percutaneous Coronary Interventions of the European Society of Cardiology. Eur Heart J (2005);26:804-47.

[87] Mehta SR, Yusuf S, Peters RJ, Bertrand ME, Lewis BS, Natarajan MK et al. Effects of pretreatment with clopidogrel and aspirin followed by long-term therapy in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the PCI-CURE study. Lancet (2001);358:527-33.

[88] Van Giezen J, Nilsson L, Berntsson P, Wissing BM, Giordanetto F, Tomlinson W et al. Ticagrelor binds to human P2Y(12) independently from ADP but antagonizes ADP-induced receptor signaling and platelet aggregation. J Thromb Haemost (2009);7:1556-65.

[89] Cannon CP, Husted S, Harrington RA, Scirica BM, Emanuelsson H, Peters G et al. Safety, tolerability, and initial efficacy of AZD6140, the first reversible oral adenosine diphosphate receptor antagonist, compared with clopidogrel, in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndrome: primary results of the DISPERSE-2 trial. J Am Coll Cardiol (2007);50:1844-51.

[90] James S, Akerblom A, Cannon CP, Emanuelsson H, Husted S, Katus H et al. Comparison of ticagrelor, the first reversible oral P2Y(12) receptor antagonist, with clopidogrel in patients with acute coronary syndromes: Rationale, design, and baseline characteristics of the PLATelet inhibition and patient Outcomes (PLATO) trial. Am Heart J (2009);157:599-605.

[91] Gurbel PA, Bliden KP, Hiatt BL, O'Connor CM. Clopidogrel for coronary stenting: response variability, drug resistance, and the effect of pretreatment platelet reactivity. Circulation (2003);107:2908-13.

[92] Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Ramirez C, Barrera-Ramirez C, Sabate M et al. Identification of low responders to a 300-mg clopidogrel loading dose in patients undergoing coronary stenting. Thromb Res (2005);115:101-8.

[93] Jaremo P, Lindahl TL, Fransson SG, Richter A. Individual variations of platelet inhibition after loading doses of clopidogrel. J Intern Med (2002);252:233-8.

[94] Muller I, Besta F, Schulz C, Massberg S, Schonig A, Gawaz M. Prevalence of clopidogrel non-responders among patients with stable angina pectoris scheduled for elective coronary stent placement. Thromb Haemost (2003);89:783-7.

[95] Serebruany VL, Steinhubl SR, Berger PB, Malinin AI, Bhatt DL, Topol EJ. Variability in platelet responsiveness to clopidogrel among 544 individuals. J Am Coll Cardiol (2005);45:246-51.

[96] Gum PA, Kottke-Marchant K, Welsh PA, White J, Topol EJ. A prospective, blinded determination of the natural history of aspirin resistance among stable patients with cardiovascular disease. J Am Coll Cardiol (2003);41:961-5.

[97] Cattaneo M. Resistance to antiplatelet drugs: molecular mechanisms and laboratory detection. J Thromb Haemost (2007);5 Suppl 1:230-7.

[98] Seidel H, Rahman MM, Scharf RE. Monitoring of antiplatelet therapy. Current limitations, challenges, and perspectives. Hamostaseologie (2011);31:41-51.

[99] Price MJ, Endemann S, Gollapudi RR, Valencia R, Stinis CT, Levisay JP et al. Prognostic significance of post-clopidogrel platelet reactivity assessed by a point-of-care assay on thrombotic events after drug-eluting stent implantation. Eur Heart J (2008);29:992-1000.

[100] Mangiacapra F, Barbato E, Patti G, Gatto L, Vizzi V, Ricottini E et al. Point-of-care assessment of platelet reactivity after clopidogrel to predict myonecrosis in patients undergoing percutaneous coronary intervention. JACC Cardiovasc Interv (2010);3:318-23.

[101] Mangiacapra F, De Bruyne B, Muller O, Trana C, Ntalianis A, Bartunek J et al. High residual platelet reactivity after clopidogrel: extent of coronary atherosclerosis and periprocedural myocardial infarction in patients with stable angina undergoing percutaneous coronary intervention. JACC Cardiovasc Interv (2010);3:35-40.

[102] Christersson C, Oldgren J, Bylock A, Siegbahn A, Wallentin L. Early decrease in coagulation activity after myocardial infarction is associated with lower risk of new ischaemic events: observations from the ESTEEM Trial. Eur Heart J (2007);28:692-8.

[103] Geisler T, Langer H, Wydymus M, Gohring K, Zurn C, Bigalke B et al. Low response to clopidogrel is associated with cardiovascular outcome after coronary stent implantation. Eur Heart J (2006);27:2420-5.

[104] Reganon E, Vila V, Martinez-Sales V, Vaya A, Aznar J. Inflammation, fibrinogen and thrombin generation in patients with previous myocardial infarction. Haematologica (2002);87:740-5; discussion 745.

[105] Samara WM, Bliden KP, Tantry US, Gurbel PA. The difference between clopidogrel responsiveness and posttreatment platelet reactivity. Thromb Res (2005);115:89-94.

[106] Lim E, Cornelissen J, Routledge T, Kirtland S, Charman SC, Bellm S et al. Clopidogrel did not inhibit platelet function early after coronary bypass surgery: A prospective randomized trial. J Thorac Cardiovasc Surg (2004);128:432-5.

[107] Merlini PA, Bauer KA, Oltrona L, Ardissino D, Cattaneo M, Belli C et al. Persistent activation of coagulation mechanism in unstable angina and myocardial infarction. Circulation (1994);90:61-8.

[108] Mulvihill NT, Foley JB, Murphy R, Crean P, Walsh M. Evidence of prolonged inflammation in unstable angina and non-Q wave myocardial infarction. J Am Coll Cardiol (2000);36:1210-6.

[109] Biasucci LM, Liuzzo G, Grillo RL, Caligiuri G, Rebuzzi AG, Buffon A et al. Elevated levels of C-reactive protein at discharge in patients with unstable angina predict recurrent instability. Circulation (1999);99:855-60.

[110] Ault KA, Cannon CP, Mitchell J, McCahan J, Tracy RP, Novotny WF et al. Platelet activation in patients after an acute coronary syndrome: results from the TIMI-12 trial. Thrombolysis in Myocardial Infarction. J Am Coll Cardiol (1999);33:634-9.

[111] Toth O, Calatzis A, Penz S, Losonczy H, Siess W. Multiple electrode aggregometry: a new device to measure platelet aggregation in whole blood. Thromb Haemost (2006);96:781-8.

[112] Fox SC, Behan MW, Heptinstall S. Inhibition of ADP-induced intracellular Ca2+ responses and platelet aggregation by the P2Y12 receptor antagonists AR-C69931MX and clopidogrel is enhanced by prostaglandin E1. Cell Calcium (2004);35:39-46.

[113] Sachs L. Angewandte Statistik. 10. Auflage. Berlin: Springer, 2002.

[114] Landis JR, Koch GG. The measurements of observer agreement for categorial data. Biometics (1977);33:671-679.

[115] Althoff TF, Fischer M, Langer E, Ziemer S, Baumann G. Sustained enhancement of residual platelet reactivity after coronary stenting in patients with myocardial infarction compared to elective patients. Thromb Res (2010);125:e190-6.

[116] Meier B, Bachmann D, Luscher T. 25 years of coronary angioplasty: almost a fairy tale. Lancet (2003);361:527.

[117] Yan Q, Changsheng M, Shaoping N, Xiaohui L, Junping K, Qiang L et al. Percutaneous treatment with drug-eluting stent vs bypass surgery in patients suffering from chronic stable angina with multivessel disease involving significant proximal stenosis in left anterior descending artery. Circ J (2009);73:1848-55.

[118] Gruntzig AR, Senning A, Siegenthaler WE. Nonoperative dilatation of coronary-artery stenosis: percutaneous transluminal coronary angioplasty. N Engl J Med (1979);301:61-8.

[119] Maisel WH. Unanswered questions--drug-eluting stents and the risk of late thrombosis. N Engl J Med (2007);356:981-4.

[120] Popma JJ, Berger P, Ohman EM, Harrington RA, Grines C, Weitz JI. Antithrombotic therapy during percutaneous coronary intervention: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. Chest (2004);126:576S-599S.

[121] Windecker S, Meier B. Late coronary stent thrombosis. Circulation (2007);116:1952-65.

[122] Gawaz M, Neumann FJ, Ott I, May A, Rudiger S, Schomig A. Role of activation-dependent platelet membrane glycoproteins in development of subacute occlusive coronary stent thrombosis. Coron Artery Dis (1997);8:121-8.

[123] Bassand JP, Hamm CW, Ardissino D, Boersma E, Budaj A, Fernandez-Aviles F et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of non-ST-segment elevation acute coronary syndromes. Eur Heart J (2007);28:1598-660.

[124] Van de Werf F, Bax J, Betriu A, Blomstrom-Lundqvist C, Crea F, Falk V et al. Management of acute myocardial infarction in patients presenting with persistent ST-segment elevation: the Task Force on the Management of ST-Segment Elevation Acute Myocardial Infarction of the European Society of Cardiology. Eur Heart J (2008);29:2909-45.

[125] Buonamici P, Marcucci R, Migliorini A, Gensini GF, Santini A, Paniccia R et al. Impact of platelet reactivity after clopidogrel administration on drug-eluting stent thrombosis. J Am Coll Cardiol (2007);49:2312-7.

[126] Hochholzer W, Trenk D, Bestehorn HP, Fischer B, Valina CM, Ferenc M et al. Impact of the degree of peri-interventional platelet inhibition after loading with clopidogrel on early clinical outcome of elective coronary stent placement. J Am Coll Cardiol (2006);48:1742-50.

[127] Krasopoulos G, Brister SJ, Beattie WS, Buchanan MR. Aspirin "resistance" and risk of cardiovascular morbidity: systematic review and meta-analysis. BMJ (2008);336:195-8.

[128] Marcucci R, Gori AM, Paniccia R, Giusti B, Valente S, Giglioli C et al. Cardiovascular death and nonfatal myocardial infarction in acute coronary syndrome patients receiving coronary stenting are predicted by residual platelet reactivity to ADP detected by a point-of-care assay: a 12-month follow-up. Circulation (2009);119:237-42.

[129] Matetzky S, Shenkman B, Guetta V, Shechter M, Bienart R, Goldenberg I et al. Clopidogrel resistance is associated with increased risk of recurrent atherothrombotic events in patients with acute myocardial infarction. Circulation (2004);109:3171-5.

[130] Sibbing D, Braun S, Morath T, Mehilli J, Vogt W, Schomig A et al. Platelet reactivity after clopidogrel treatment assessed with point-of-care analysis and early drug-eluting stent thrombosis. J Am Coll Cardiol (2009);53:849-56.

[131] Lev EI, Patel RT, Maresh KJ, Guthikonda S, Granada J, DeLao T et al. Aspirin and clopidogrel drug response in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the role of dual drug resistance. J Am Coll Cardiol (2006);47:27-33.

[132] Wiviott SD. Clopidogrel response variability, resistance, or both? Am J Cardiol (2006);98:18N-24N.

[133] Fefer P, Hod H, Matetzky S. Clopidogrel resistance--the cardiologist's perspective. Platelets (2007);18:175-81.

[134] Geisler T, Kapp M, Gohring-Frischholz K, Daub K, Dosch C, Bigalke B et al. Residual platelet activity is increased in clopidogrel- and ASA-treated patients with coronary stenting for acute coronary syndromes compared with stable coronary artery disease. Heart (2008);94:743-7.

[135] Kastrati A, Mehilli J, Neumann FJ, Dotzer F, ten Berg J, Bollwein H et al. Abciximab in patients with acute coronary syndromes undergoing percutaneous coronary intervention after clopidogrel pretreatment: the ISAR-REACT 2 randomized trial. JAMA (2006);295:1531-8.

[136] von Beckerath N, Kastrati A, Wieczorek A, Pogatsa-Murray G, Sibbing D, Graf I et al. A double-blind, randomized study on platelet aggregation in patients treated with a daily dose of 150 or 75 mg of clopidogrel for 30 days. Eur Heart J (2007);28:1814-9.

[137] Mehta SR, Bassand JP, Chrolavicius S, Diaz R, Fox KA, Granger CB et al. Design and rationale of CURRENT-OASIS 7: a randomized, 2 x 2 factorial trial evaluating optimal dosing strategies for clopidogrel and aspirin in patients with ST and non-ST-elevation acute coronary syndromes managed with an early invasive strategy. Am Heart J (2008);156:1080-1088 e1.

[138] Mehta SR, Tanguay JF, Eikelboom JW, Jolly SS, Joyner CD, Granger CB et al. Double-dose versus standard-dose clopidogrel and high-dose versus low-dose aspirin in individuals undergoing percutaneous coronary intervention for acute coronary syndromes (CURRENT-OASIS 7): a randomised factorial trial. Lancet (2010);376:1233-43.

[139] Budaj A, Eikelboom JW, Mehta SR, Afzal R, Chrolavicius S, Bassand JP et al. Improving clinical outcomes by reducing bleeding in patients with non-ST-elevation acute coronary syndromes. Eur Heart J (2009);30:655-61.

[140] Feit F, Voeltz MD, Attubato MJ, Lincoff AM, Chew DP, Bittl JA et al. Predictors and impact of major hemorrhage on mortality following percutaneous coronary intervention from the REPLACE-2 Trial. Am J Cardiol (2007);100:1364-9.

[141] Manoukian SV, Feit F, Mehran R, Voeltz MD, Ebrahimi R, Hamon M et al. Impact of major bleeding on 30-day mortality and clinical outcomes in patients with acute coronary syndromes: an analysis from the ACUITY Trial. J Am Coll Cardiol (2007);49:1362-8.

[142] Ndrepepa G, Berger PB, Mehilli J, Seyfarth M, Neumann FJ, Schomig A et al. Periprocedural bleeding and 1-year outcome after percutaneous coronary interventions: appropriateness of including bleeding as a component of a quadruple end point. J Am Coll Cardiol (2008);51:690-7.

[143] Wallentin L, Becker RC, Budaj A, Cannon CP, Emanuelsson H, Held C et al. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. N Engl J Med (2009);361:1045-57.

[144] Ang L, Palakodeti V, Khalid A, Tsimikas S, Idrees Z, Tran P et al. Elevated plasma fibrinogen and diabetes mellitus are associated with lower inhibition of platelet reactivity with clopidogrel. J Am Coll Cardiol (2008);52:1052-9.

[145] Gurbel PA, Bliden KP, Kreutz RP, Dichiara J, Antonino MJ, Tantry US. The link between heightened thrombogenicity and inflammation: pre-procedure characterization of the patient at high risk for recurrent events after stenting. Platelets (2009);20:97-104.

[146] Eikelboom JW, Hankey GJ. Aspirin resistance: a new independent predictor of vascular events? J Am Coll Cardiol (2003);41:966-8.

[147] von Beckerath N, Sibbing D, Jawansky S, Braun S, Morath T, Vogt W et al. Assessment of platelet response to clopidogrel with multiple electrode aggregometry, the VerifyNow P2Y12 analyzer and platelet Vasodilator-Stimulated Phosphoprotein flow cytometry. Blood Coagul Fibrinolysis (2010);21:46-52.

[148] Awidi A, Maqablah A, Dweik M, Bsoul N, Abu-Khader A. Comparison of platelet aggregation using light transmission and multiple electrode aggregometry in Glanzmann thrombasthenia. Platelets (2009);20:297-301.

[149] Kuliczkowski W, Witkowski A, Polonski L, Watala C, Filipiak K, Budaj A et al. Interindividual variability in the response to oral antiplatelet drugs: a position paper of the Working Group on antiplatelet drugs resistance appointed by the Section of Cardiovascular Interventions of the Polish Cardiac Society, endorsed by the Working Group on Thrombosis of the European Society of Cardiology. Eur Heart J (2009);30:426-35.

[150] Siller-Matula JM, Gouya G, Wolzt M, Jilma B. Cross validation of the Multiple Electrode Aggregometry. A prospective trial in healthy volunteers. Thromb Haemost (2009);102:397-403.

[151] Snoep JD, Hovens MM, Eikenboom JC, van der Bom JG, Huisman MV. Association of laboratory-defined aspirin resistance with a higher risk of recurrent cardiovascular events: a systematic review and meta-analysis. Arch Intern Med (2007);167:1593-9.

7 Anhang

7.1 Abkürzungen

AA	Arachidonsäure
ACE	*Angiotensin Converting Enzyme*
ACS	Akutes Koronarsyndrom
ADP	Adenosindiphosphat
ADPtest	Impedanzaggregometrie induziert mit 6,4 µM ADP
ADPtest HS	Impedanzaggregometrie induziert mit 6,4 µM ADP + 20 nM Prostaglandin E1
ARB	Angiotensin-Rezeptorantagonisten
ASPItest	MEA induziert mit 0,5 mM Arachidonsäure
ASS	Acetylsalicylsäure
AUC	*Area Under the Curve*
B	Blut
CK	Creatinkinase
COX	Cyclooxygenase
CRP	C-reaktives Protein
EKG	Elektrokardiographie
GP	Glykoprotein
Hb	Hämoglobin
HLP	Hyperlipoproteinämie
IP3	Inosintriphosphat
LDL	*Low Density Lipoprotein*
Leuko	Leukozyten
LTA	Lichttransmissionsaggregometrie
LTA-AA	Lichttransmissionsaggregometrie induziert mit 0,5 mg/ml Arachidonsäure
$LTA\text{-}ADP_{2,5\mu M}$	Lichttransmissionsaggregometrie induziert mit 2,5 µM ADP
$LTA\text{-}ADP_{5\mu M}$	Lichttransmissionsaggregometrie induziert mit 5µM ADP
LVEF	Linksventrikuläre Ejektionsfraktion

MEA	Impedanzaggregometrie, *Multiple Electrode Aggregometry*
MI	Myokardinfarkt
MLC	*Myosin Light Chain*
mRNA	*Messenger Ribonucleic Acid*
MW	Mittelwert
n	Anzahl der Werte
NSTEMI	*Non- ST-Elevation Myocardial Infarction*
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
P	Plasma
PAR	Protease-aktivierter Rezeptor
PGE_1	Prostaglandin E_1
PGG_2	Prostaglandin G_2
PGH_2	Prostaglandin H_2
PIP3	Phosphatidylinositoltriphosphat
PKC	Proteinkinase C
PLC	Phospholipase C
PRP	Thrombozytenreiches Plasma
PTCA	Perkutane transluminale konorare Angioplastie
RhoA	A-Form der GPTase Rho
Rho-GEF	Guanin-Nukleotid-Austauschfaktor der Rho-Kinase
RNA	*Ribonucleic Acid*
SD	Standardabweichung
STEMI	*ST-Elevation Myocardial Infarction*
Thrombo	Thrombozyten
vs.	versus
vWF	von-Willebrandt-Faktor

Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. G. Baumann bedanken, der mir das interessante Thema bereitgestellt und mich sehr zu dessen Bearbeitung motiviert hat.

Ganz besonders bin ich Herrn Dr. med. Till Althoff für die große Unterstützung bei der Erstellung der statistischen Bearbeitung sowie für Beratung und Korrekturen dankbar. Der Dank gilt auch für das Vertrauen und die kontinuierliche Unterstützung, die er mir bei Aufnahme in das von ihm maßgeblich geplante Studienprojekt entgegengebracht hat. Er hat immer Verständnis für meine berufliche und private Situation gehabt und mich immer wieder neu motiviert, wenn der Fortschritt meiner Arbeit ins Stocken geraten schien.

Herzlicher Dank gilt auch Frau Dr. med. Sabine Ziemer und Frau Dr. med. Elisabeth Langer und den speziell geschulten medizinisch-technischen Assistentinnen für die Unterstützung, Planung und Durchführung der Untersuchungen im Institut für Laboratoriumsmedizin und Pathobiochemie, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Mitte.

Dankbar bin ich auch meiner Familie, meiner Frau Friederike und meinen beiden Töchtern Charlotte Barbara und Constanze Barbara. Sie haben mich immer ideell unterstützt, waren geduldig bei vorübergehenden Tiefpunkten und haben mich stets zur Fortsetzung meiner Arbeit motiviert.

Nicht zuletzt bin ich meinen Eltern Dr. med. Meinrad Fischer und Barbara Fischer sehr dankbar, die mir das Studium mit ermöglicht und mich während des Medizinstudiums ideell immer sehr unterstützt haben.

Vielen anderen Personen, die an dieser Stelle nicht genannt sind, mir aber ebenfalls bei dieser Arbeit geholfen haben, sei an dieser Stelle Dank gesagt.

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Erklärung

Ich, Matthias Fischer, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema:

Anhaltend erhöhte residuale Thrombozytenreaktivität
nach koronarer Stentimplantation
bei Patienten mit Myokardinfarkt
im Vergleich mit elektiven Patienten

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.

Datum Unterschrift