

Charité – Universitätsmedizin Berlin

Campus Benjamin Franklin

aus der Medizinischen Klinik II für Kardiologie und Pulmologie

Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. H.-P. Schultheiss

Pharmakologische Untersuchung zur Wirkung von Clopidogrel und/oder Atorvastatin
auf die Thrombozytenreaktivität nach Stimulation mit verschiedenen Plättchenaktivatoren

Inaugural Dissertation
zur Erlangung der
Medizinischen Doktorwürde
der Charité – Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin

vorgelegt von

Michael Piorkowski

aus

Berlin

Referent: Prof. Dr. med. U. Rauch-Kröhnert

Korreferent: Prof. Dr. med. G. Schultz

Gedruckt mit Genehmigung der Charité – Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin

Promoviert am: 22.06.2007

1	EINLEITUNG	3
2	GRUNDLAGEN	4
2.1	Der Thrombozyt	4
2.1.1	Morphologie und Funktion.....	4
2.1.2	Adhäsion, Aktivierung, Aggregation	5
2.2	Thrombozyten und Atherosklerose	6
2.3	Die Pharmakotherapie mit Statinen.....	7
2.3.1	Die pleiotropen Effekte von Statinen.....	9
2.3.2	Pharmakokinetik von Atorvastatin.....	11
2.4	Die antithrombozytäre Therapie mit Clopidogrel	13
2.4.1	Clopidogrel in der Therapie der Atherosklerose	13
2.4.2	Pharmakokinetik von Clopidogrel	14
2.5	Fragestellung.....	17
3	METHODIK	18
3.1	Studiendesign.....	18
3.2	In-vitro-Thrombozytenstimulation und Durchflusszytometrie	19
3.2.1	Verwendete Lösungen.....	19
3.2.2	Die stimulierenden Substanzen	20
3.2.3	Die Antikörper.....	21
3.2.4	Messgeräte.....	21
3.2.5	Der Versuchablauf.....	22
3.3	Die Vollblutagglutination im Ultegra - TRAP - RPFA™	24
3.4	Statistik.....	26
3.5	Diskussion der methodischen Einschränkung.....	26
4	ERGEBNISSE	27
4.1	Etablierung der Thrombozytenstimulation	27
4.2	Die Studienpopulation.....	29
4.3	Die In-vitro-Thrombozytenstimulation.....	30
4.3.1	Reduktion thrombozytärer P-Selectin (CD 62P) Dichte durch Clopidogrel.....	30
4.3.2	Reduktion thrombozytärer Thrombospondin (TSP) Dichte durch Clopidogrel....	34
4.3.3	Veränderungen in der thrombozytären Expression von Lysosomalen GP 53	37
4.4	Die Thrombozytenagglutination im Vollblut.....	40
5	DISKUSSION	42
5.1	Clopidogrel reduziert die Thrombozytenaktivierbarkeit durch TRAP.....	42

5.2	Atorvastatin reduziert die Thrombozytenreaktivität	44
5.3	Clopidogrel und Atorvastatin: Interaktion oder Synergismus?	46
5.4	Clopidogrel bei Patienten mit KHK und multipler Medikation.....	48
6	ZUSAMMENFASSUNG	50
7	LITERATURVERZEICHNIS	52
8	ANHANG	60

6 ZUSAMMENFASSUNG

Bei der Behandlung von atherosklerotischen Erkrankungen nimmt die medikamentöse Therapie neben interventionellen Verfahren einen hohen Stellenwert ein. Die Kernpunkte in dieser Therapie sind Lipidsenkung und Thrombozyteninhibition. Die Senkung des Serumcholesterols, die Hemmung der Thrombozytenfunktion sowie die Verbesserung der Endotheldysfunktion können die Progression von atherosklerotischen Plaques vermindern. Die häufig gleichzeitigen antihypertensiven, antihyperglykämischen und antiaggregatorischen Therapien stellen ein hohes Risiko für potenzielle Arzneimittelinteraktionen dar. Dabei sind meistens unerwünschte Wirkungsverstärkung und -abschwächung, sowie verstärkte Nebenwirkungen zu erwarten.

Beobachtungen zur Arzneimittelinteraktion zwischen dem Lipidsenker Atorvastatin und dem Thrombozytenhemmer Clopidogrel sind von besonders hoher klinischer Bedeutung. Es wurde berichtet, dass die Gabe beider Substanzen aufgrund von Wechselwirkungen während der Metabolisierung in der Leber die Wirksamkeit des Clopidogrels beeinträchtigt. Patienten, die Atorvastatin und Clopidogrel einnehmen, würden einem erhöhten Risiko für sekundäre kardiovaskuläre Komplikationen nach perkutaner Koronarintervention und Myokardinfarkt unterliegen.

Die vorliegende Arbeit untersuchte, wie sich die Kombinationstherapie von Clopidogrel plus Atorvastatin im Gegensatz zur Clopidogrelmonotherapie auf die Thrombozytenfunktion bei gesunden Probanden auswirkt. Auch bei Patienten mit manifester koronarer Herzkrankheit, die neben Atorvastatin noch weitere Medikamente einnahmen, wurde die thrombozyteninhibierende Wirkung von Clopidogrel analysiert. Die Agonist-induzierte Thrombozytenreaktivität wurde anhand einer durchflusszytometrischen Quantifikation von Plättchenaktivierungsmarkern und der Aggregation im Vollblut evaluiert.

Die dreitägige Therapie mit Atorvastatin reduzierte die Degranulation der Blutplättchen bei den gesunden Probanden. Unter der Kombinationstherapie von Clopidogrel und Atorvastatin zeigte sich am Ende der Beobachtung teilweise eine bessere Thrombozytenfunktionshemmung als unter der Monotherapie mit Clopidogrel.

96 Stunden nach Beginn der Clopidogrelgabe waren thrombozytäre Degranulation und Aggregation bei den KHK-Patienten mit begleitender Atorvastatintherapie ebenfalls gehemmt.

Somit wurde eine Wirkungsverminderung des Clopidogrels durch Atorvastatin sowohl bei gesunden Probanden als auch bei Patienten mit KHK nicht nachgewiesen. Vielmehr war die Thrombozytenfunktion unter der zusätzlichen Gabe von Atorvastatin teilweise stärker gehemmt.

Das Risiko der Patienten mit KHK, an sekundären kardiovaskulären Ereignissen zu erkranken,

korreliert deutlich mit der Prothrombogenität der Thrombozyten. Aus diesem Grund ist die Wirksamkeit der medikamentösen antiaggregatorischen Therapie von entscheidender Bedeutung für die klinische Prognose der Patienten. Unsere Untersuchung zeigte, dass die Kombinationstherapie aus einem Statin und Clopidogrel die Thrombozytenreaktivität teilweise wirksamer hemmt als eine Monotherapie. Dies könnte die Prognoseverbesserung erklären, die in der CREDO-Studie bei Patienten mit der kombinierten Gabe von Statin und Clopidogrel beobachtet wurde.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich all denen danken, die mir diese Arbeit ermöglichten und mich mit ihrem Rat und ihrer Hilfe tatkräftig unterstützten.

Ein besonderer Dank gilt meiner Doktormutter, Frau Prof. Dr. Rauch, die mich in die Thematik einführte und mich bei der Durchführung betreute. Ferner stellte sie alle notwendigen Instrumente und Chemikalien ihres Labors zur Verfügung. Sie stand mir in methodischen, fachlichen und organisatorischen Fragen stets und unermüdlich hilfreich zur Seite.

Danken möchte ich auch Herrn Prof. Dr. Schultheiss, in dessen Klinik es mir ermöglicht wurde, den Bezug von den gesunden Probanden zu den betroffenen Patienten herzustellen.

Weiterhin gilt ein besonderer Dank allen Probanden, die an dieser Studie teilgenommen haben.

Ebenso danke ich Herrn Ulf Weikert, der mir bei der Akquirierung der Patientengruppe half und mich in die durchflusszytometrischen Messungen einführte.

Bedanken möchte ich mich auch bei Frau Jana Priess für die gegenseitige Unterstützung während der Arbeit im Labor.

Abschließend bedanke ich mich bei meiner Familie, die mich während der sehr zeitintensiven Durchführung dieser Studie unterstützte.

Lebenslauf

Der Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version dieser Arbeit nicht mit veröffentlicht.

Publikationsliste

Abstracts:

- A. **Piorkowski M**, Weikert U, Pauschinger M, Schultheiss HP, Rauch U. Beschreibung eines geeigneten Messverfahrens zur Erfassung des Effektes von ADP-Rezeptor-Antagonisten auf die Thrombozytenfunktion. Jahrbuch des FB Humanmedizin der FU Berlin (2002). S. 427
- B. **Piorkowski M**, Weikert U, Schwimmbeck PL, Schultheiss HP, Rauch U. Atorvastatin und Clopidogrel - Kombinationstherapie zur effektiven Thrombozyteninhibition. Jahrbuch der Charité – Universitätsmedizin Berlin (2003). S. 421
- C. **Piorkowski M**, Weikert U, Schwimmbeck PL, Rauch U. Reduktion der Expression von GP IIb/IIIa-Rezeptoren auf Thrombozyten unter Therapie mit Clopidogrel. *Z Kardiol* 92: Suppl 1 (2003)
- D. **Piorkowski M**, Weikert U, Schwimmbeck PL, Rauch U. Atorvastatin und Clopidogrel - die Kombinationstherapie zur effektiven Thrombozyteninhibition. *Z Kardiol* 93: Suppl 3 (2004)
- E. Weikert U, Priess J, **Piorkowski M**, Schwimmbeck PL, Rauch U. Erhöhte Thrombozytenaktivierung und veränderte Gerinnungsfunktion unter Abciximab bei akutem Myokardinfarkt. *Z Kardiol* 93: Suppl 3 (2004)
- F. **Piorkowski M**, Fischer M, Antoniak S, Jaster M, Morguet AJ, Rauch U. Einfluss der LDL-Cholesterolsenkenden Therapie auf die Thrombozytenreaktivität: Vergleich der hochdosierten Atorvastatin-Behandlung mit einer Kombinationstherapie aus Atorvastatin und Ezetimib. *Clin Res Cardiol* 95: Suppl 5 (2006)
- G. Willich T, Stellbaum C, Hofferberth M, **Piorkowski M**, Rauch U. Clopidogrel reduziert die thrombozytäre Sekretion von sCD40 Ligand und senkt den Plasmaspiegel von sCD40 Ligand und Tissue Faktor. *Clin Res Cardiol* 95: Suppl 5 (2006)

Originalarbeiten:

- H. **Piorkowski M**, Weikert U, Schwimmbeck PL, Martus P, Schultheiss HP, Rauch U. ADP induced platelet degranulation in healthy individuals is reduced by clopidogrel after pretreatment with atorvastatin. *Thromb Haemost.* 2004; 92(3):614-20.
- I. **Piorkowski M**, Priess J, Weikert U, Jaster M, Schwimmbeck PL, Schultheiss HP, Rauch U. Abciximab therapy is associated with increased platelet activation and decreased heparin dosage in patients with acute myocardial infarction. *Thromb Haemost.* 2005; 94(2):422-6.
- J. **Piorkowski M**, Fischer S, Stellbaum C, Jaster M, Martus P, Morguet AJ, Schultheiss HP, Rauch U. Treatment with ezetimibe plus low-dose atorvastatin compared to higher-dose atorvastatin alone: is sufficient cholesterol-lowering enough to inhibit platelets? *J Am Coll Card.* 2007; 49(10):1035-42.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, Michael Piorkowski, geb. am 07.05.1979 in Berlin, derzeit wohnhaft in Gross Gaglow / Gartenstrasse 3, 03051 Cottbus, an Eides Statt, dass die vorliegende Arbeit von mir selbst und ohne unzulässige Hilfe Dritter verfasst wurde, sie auch in Teilen keine Kopie anderer Arbeiten darstellt und dass die benutzten Hilfsmittel sowie die Literatur vollständig angegeben sind.

Michael Piorkowski

Cottbus, den 07.12.2006