

5 DISKUSSION

Diese Studie hatte zum Ziel, einen möglichen Wirkverlust des Thrombozyteninhibitors Clopidogrel durch eine gleichzeitige Therapie mit dem LDL-Cholesterol-Senker Atorvastatin zu untersuchen. Diese Untersuchung erfolgte anhand der Beobachtung der Thrombozyteninhibition durch Clopidogrel bei gesunden, freiwilligen Probanden als auch bei Patienten mit KHK, die mit Atorvastatin behandelt wurden. Dabei konnten folgende Beobachtungen gemacht werden:

- (1) Die dreitägige Atorvastatingabe reduziert bei den gesunden Probanden die Degranulation der Thrombozyten nach Stimulation mit ADP und TRAP.
- (2) Die Kombinationstherapie bestehend aus Atorvastatin und Clopidogrel hemmt bei den gesunden Probanden die Thrombozytenreaktivität stärker als die Clopidogrelmonotherapie.
- (3) Sowohl für die Degranulation als auch für die Aggregation wurde kein Wirkverlust des Clopidogrels durch die gleichzeitige Atorvastatingabe beobachtet.

Diese Beobachtungen, insbesondere die Thrombozytenhemmung nach TRAP-Stimulation, die Wirkung des Atorvastatins, als auch Ergebnisse anderer Studien zur Medikamenteninteraktion zwischen Clopidogrel und Atorvastatin sollen hier näher diskutiert werden.

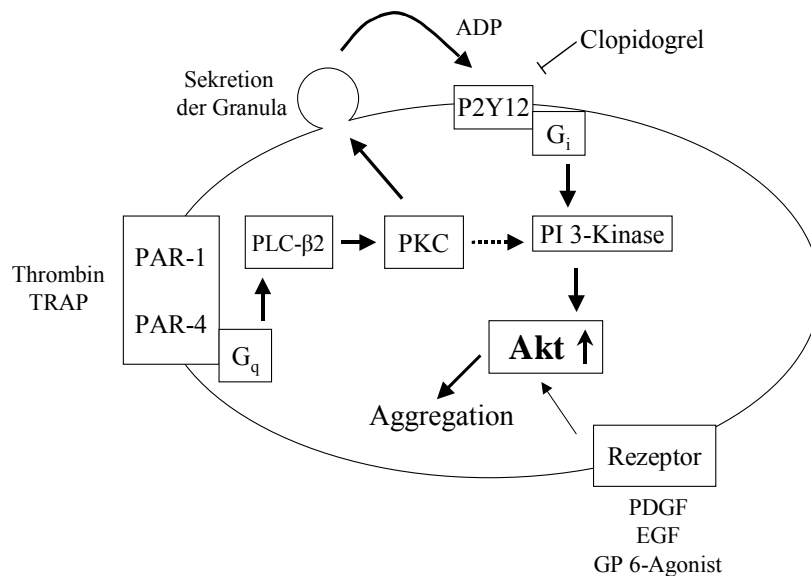
5.1 Clopidogrel reduziert die Thrombozytenaktivierbarkeit durch TRAP

In dieser Studie konnte, wie nicht anders zu erwarten, eine Reduktion der Thrombozytenaktivierbarkeit unter Stimulation mit ADP durch eine alleinige Clopidogreltherapie beobachtet werden. Dies zeigte sich durch eine Reduktion der Markerdichte, die nach Stimulation mit ADP aus den α -Granula auf der Thrombozytenoberfläche zu messen war. Eine signifikante Reduktion des lysosomalen Markers (CD 63) durch Clopidogrel konnte nach ADP-Stimulation nicht nachgewiesen werden. Da in der Reihenfolge der Stärke der Degranulation die Lysosomen zum Schluss freigesetzt werden, genügt die Stimulation mit ADP nicht, um vor der Clopidogreltherapie eine ausreichende und leicht nachweisbare Menge von CD 63 an die Oberfläche zu verlagern (siehe Kapitel 2.1.1). Dementsprechend ist die durch Clopidogrel eingeschränkte Degranulation anhand von CD 63 kaum nachweisbar.

Im Gegensatz zu ADP sind Thrombin als auch TRAP viel stärkere Plättchenaktivatoren. Da diese Aktivierung über die PAR-Rezeptoren und eine Vielzahl von nachgeschalteten Signaltransduktionsvorgängen verläuft (siehe Kapitel 2.1.2), war es durchaus von Interesse zu erfahren, ob eine Clopidogreltherapie eine hemmende Wirkung auf die Aktivierung der Thrombozyten mittels TRAP haben würde. Das betraf sowohl die In-vitro-

Thrombozytenstimulation als auch das TRAP-RPFA™. Nach Voruntersuchungen mit widersprüchlichen Ergebnissen einer hemmenden Wirkung des Clopidogrels auf die TRAP-induzierte Thrombozytenaktivierung konnte in dieser Studie beobachtet werden, dass durch die Clopidogrelmonotherapie die Aktivierbarkeit der Plättchen nach Stimulation mit TRAP abnahm.[18;21] Wie beim ADP waren es auch hier wieder hauptsächlich die Marker der α -Granula, die die stärksten Veränderungen aufwiesen. Aber auch das lysosomale GP 53 (CD 63) zeigte die inhibierende Wirkung des Clopidogrels unter TRAP-Stimulation. Im RPFA™-Agglutinationstest war ebenfalls ein hemmender Effekt des Clopidogrels auf die Aggregationsfähigkeit der Thrombozyten im Vollblut zu beobachten. Eine mögliche Erklärung für diese Effekte liefert eine Arbeit über Signaltransduktionsvorgänge unterhalb der PAR- und P2Y12-Rezeptoren in den Thrombozyten. Diese wurden anhand der Aktivierbarkeit der Akt-Kinase (Proteinkinase B, PKB) nach Aktivierung mit unterschiedlichen Stimuli untersucht.[27]

Abb. 20: Signalweg zur Aktivierung der Akt-Kinase durch Thrombin, TRAP und ADP; nach [27]



Es ist bereits bekannt, dass die Stimulation mit ADP am P2Y12-Rezeptor eine Untereinheit des gekoppelten G_i -Proteins aktiviert. Dadurch wird wiederum eine Phosphatidylinostol 3-Kinase (PI 3-Kinase) aktiviert. Deren Produkte, phosphorylierte Phosphatidylinositole, triggern die Phosphorylierung von Akt. Dies geschieht durch die phosphatidylinositol-dependent kinases (PDK) 1 und 2.[27;78] Die Funktion der Akt-Kinase ist noch nicht gänzlich geklärt, aber Inhibitoren dieser Kinase verhinderten die irreversible Aggregation der Thrombozyten bzw. führten zur Desaggregation.[27]

Kim et al. untersuchten die Phosphorylierungszustände der Akt-Kinase als Resultat

intrazellulärer Signalwege oberhalb dieser Kinase. Sie stellten fest, dass die Hauptursachen für die Phosphorylierung der Akt-Kinase nach Thrombin- oder TRAP-Stimulation die Sekretion der thrombozytären Granula (und des enthaltenen ADPs) und die folgende Aktivierung des P2Y₁₂-Rezeptors waren.[27] Das bedeutet, dass ein Großteil der Thrombin oder TRAP-induzierten Aktivierung der Thrombozyten durch ADP vermittelt wird. Diese Daten bestätigen unsere Ergebnisse, wonach auch die TRAP-induzierte Thrombozytenaktivierbarkeit unter einer Clopidogreltherapie inhibierbar ist.

5.2 Atorvastatin reduziert die Thrombozytenreaktivität

Unabhängig von der Thrombozyteninhibition mit Clopidogrel konnte ein Effekt der Atorvastatintherapie auf die Thrombozytenaktivierbarkeit beobachtet werden. So reduzierte bei den gesunden Probanden die dreitägige Gabe von Atorvastatin die Degranulation der Thrombozyten nach Stimulation mit TRAP. Tendenziell war dies auch nach ADP-Stimulation zu beobachten. Dies wird besonders an den α -granulären Markern P-Selectin und Thrombospondin deutlich. Eine Veränderung der Expression von lysosomalem GP 53 auf den Thrombozyten durch Atorvastatin erreichte keine statistische Signifikanz.

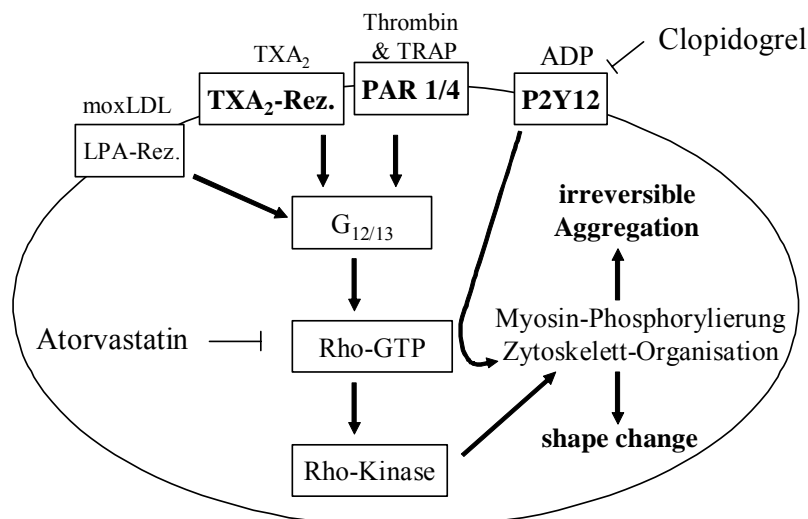
Eine hemmende Wirkung von Statinen auf die Thrombozytenfunktion wurde bereits mehrfach beschrieben (siehe Kapitel 2.3.1.5).[49;51;53;58;72;84] Da der hemmende Effekt erst nach einer mehrwöchigen Therapie auftrat, wurden hauptsächlich lipidsenkende Eigenschaften für diesen speziellen pleiotropen Effekt verantwortlich gemacht. In dieser Studie konnte jedoch eine Hemmwirkung schon nach drei Tagen registriert werden. Diese Beobachtung deckt sich mit In-vitro-Versuchen, die mögliche Effekte von Statinen auf die Thrombozytenfunktion unabhängig von der lipidsenkenden Wirkung untersuchten. So zeigte eine Plättchensuspension eine eingeschränkte Aggregation nach In-vitro-Inkubation mit Fluvastatin.[51] Dies wurde mit einem Mechanismus begründet, durch den lipophile Statine direkt an die Thrombozyten binden und dort eine hemmende Wirkung entfalten. Diese Erklärung erscheint sehr plausibel, weil das hydrophile Pravastatin diese Eigenschaft nicht aufwies. Es ist zu vermuten, dass das in dieser Studie verwendete lipophile Atorvastatin ebenfalls direkt an Plättchen zu binden vermag, und sie dadurch inhibieren kann.

Darüber hinaus gibt es noch weitere Mechanismen, mit denen Statine über die Beeinflussung von intrazellulären Signalwegen Thrombozyten hemmen können. Wie in Kapitel 2.3 ausgeführt, blockieren Statine durch den Mangel an intrazellulären Isoprenoiden die posttranslationale Modifikation von kleinen G-Proteinen, wie Rho und Ras. Das verhindert, dass diese G-Proteine an die Zellmembran binden können. Dadurch werden intrazelluläre Signalwege beeinflusst, die

über diese G-Proteine extrazelluläre Signale in das Thrombozyteninnere weiterleiten.[10;93] Zum Beispiel Essler et al. demonstrierten, dass mild oxidiertes LDL (moxLDL) über eine Aktivierung des Lysophosphatidsäure(LPA)-Rezeptors und des nachgeschalteten Rho/Rho-Kinase-Signalweges Thrombozyten stimuliert.[14;63] Die Autoren zeigten auch, dass Lovastatin diese Aktivierung verhindert.[14] Schultz et al. demonstrierten, dass die Signale, die TXA₂ und Thrombin an ihren Rezeptoren auslösen, unter anderem über G_{12/13}-Proteine in die Thrombozyten weitergeleitet werden und ebenfalls den Rho/Rho-Kinase-Signalweg aktivieren.[28;50] Alle diese Substanzen, die neben dem ADP In-vivo-Thrombozytenaktivierung und -aggregation auslösen, können also potenziell in ihren Effekten auf die Thrombozyten durch eine Statintherapie inhibiert werden. Zusätzlich konnten Soulet et al. die Aktivierung des Rho/Rho-Kinase-Signalweges durch ADP am P2Y₁₂-Rezeptor beobachten. Die Autoren vermuteten eine zusätzliche Kopplung des P2Y₁₂-Rezeptors an G_{12/13} und den Rho-Signalweg.[78]

Dieser Rho-Signalweg ist hauptsächlich für die erste Phase der Thrombozytenaktivierung, den sogenannten shape change, verantwortlich. Durch Polymerisation des Zytoskelettes finden in dieser Phase die Ausbildung der Pseudopodien sowie eine Zentralisierung der Granula statt. Dies ist Voraussetzung für die nachfolgende Degranulation und Aggregation.[28] Der Signalweg ist auch bedeutsam für die irreversible Aggregation der Thrombozyten.[44]

Abb. 21: Die Aktivierung des Rho/Rho-Kinase-Signalweges; nach [10;28;44;50;63;78]



In Anbetracht dieser experimentellen Untersuchungen liegt die Vermutung nahe, dass durch eine Therapie mit Atorvastatin der Rho-Signalweg blockiert werden kann. Dadurch wird die Signalwirkung aller genannten Stimuli (moxLDL, TXA₂, Thrombin, TRAP, ADP) beeinträchtigt

und so die Stimulierbarkeit der Thrombozyten gehemmt. Dies könnte die hier beobachtete Reduktion der ADP- und TRAP-induzierten Thrombozytenaktivierung durch Atorvastatin erklären.

5.3 Clopidogrel und Atorvastatin: Interaktion oder Synergismus?

Nachdem bei den gesunden Probanden durch die Atorvastatintherapie eine Hemmung der Thrombozytenfunktion beobachtet werden konnte, stellte sich nun die Frage, wie unter der zusätzlichen Gabe von Clopidogrel die Thrombozytenfunktion beeinflusst wird. Dazu wurden Probanden mit einer Clopidogrelmonotherapie bzw. mit einer Kombinationstherapie aus Atorvastatin plus Clopidogrel verglichen. Auf diese Weise sollte der Einfluss von Atorvastatin auf die Wirksamkeit des Clopidogrels erfasst werden.

Im Gegensatz zu der Interaktionsstudie, die am Anfang dieser Untersuchung stand, konnte in der vorliegenden Arbeit keine Abschwächung der Wirksamkeit von Clopidogrel durch eine gleichzeitige Gabe von Atorvastatin beobachtet werden.[30] In der benannten Interaktionsstudie wurde postuliert, dass die antiaggregatorische Wirkung von Clopidogrel bei gleichzeitiger lipid-senkender Therapie mit Atorvastatin dosisabhängig abgeschwächt bzw. aufgehoben war.[30] Diese Behauptung wurde anhand von Beobachtungen aufgestellt, die mit einem eher unüblichen Aggregationstest erhoben worden waren. Erklärt wurden die Ergebnisse mit einer In-vitro-Studie, die die Affinitäten von Clopidogrel und Atorvastatin an rekombinant hergestellten CYP450-Isoenzymen untersuchte.[9] Dort wurde gezeigt, wie die Aktivierung von Clopidogrel in vitro an den CYP450-Isoenzymen CYP3A4 und CYP3A5 stattfand und durch die Anwesenheit von Atorvastatin inhibiert wurde. In äquimolarer Konzentration blockierte Atorvastatin zu 90% die Bildung der Vorstufe zum aktiven Clopidogrel.

Eine Vielzahl von experimentellen und klinischen Studien hat sich seit den ersten Hinweisen auf eine mögliche Arzneimittelinteraktion zwischen Statinen und Clopidogrel mit diesem Thema beschäftigt. Eine Studie berichtete über eine nicht direkte Reduktion der Clopidogrelwirkung. Vielmehr wurde die Zeitverzögerung bis zur vollen Wirkung als Korrelat für eine Arzneimittelinteraktion betrachtet.[48] Da dies auch für Simvastatin beobachtet wurde, schlossen daraus die Autoren, dass der Effekt der Arzneimittelinteraktion für alle Statine zutrifft, die über CYP3A4 metabolisiert werden. Demnach würden Atorvastatin, Simvastatin und Rosuvastatin diese Interaktion aufweisen, und Pravastatin sowie Fluvastatin nicht. In mehreren anderen Studien zur Beurteilung der Effektivität von Clopidogrel bei gleichzeitiger Gabe von Statinen wurden Patienten mit stabiler KHK als auch mit akutem Koronarsyndrom beobachtet.[19;45;47;75;87] Diese Studien berichteten im Großen und Ganzen, dass eine

Atorvastatintherapie die Wirkung des Clopidogrels nicht beeinträchtigt. Dabei unterschieden sich die Studiendesigns hinsichtlich der loading dose des Clopidogrels, der untersuchten Statine und der Beobachtungsdauer.[19;45;47;75;87] Die hier vorgelegte Untersuchung erbrachte ebenfalls keinen Wirkverlust der Clopidogreltherapie durch eine gleichzeitige Gabe von Atorvastatin. Eine andere Untersuchung an gesunden Probanden ergab, dass nur Simvastatin (CYP3A4 metabolisiert) und Fluvastatin (nicht CYP3A4 metabolisiert) einen Wirkverlust von gleichzeitig verabreichtem Clopidogrel verursachten.[37]

Anhand dieser Vielzahl an experimentellen Studien mit unterschiedlichen Studiendesigns, verwandten Methoden, Definitionen von Wirkverlust, entsprechenden Ergebnissen und Schlussfolgerungen zeigt sich eine gewisse Ratlosigkeit, inwiefern wirklich eine klinisch relevante Arzneimittelinteraktion vorliegt. Wenn auch in der vorliegenden Studie experimentell eine Interaktion ausgeschlossen werden konnte, sind klinische Mortalitäts- und Morbiditätsdaten von großem Interesse. Im deutschen MITRA-PLUS-Herzinfarktregister konnte bei der Gabe von Clopidogrel kein Nachteil einer gleichzeitigen Therapie mit Statinen beobachtet werden.[94] Weiterhin ergab eine Nachuntersuchung der CREDO Studienpopulation, dass der Vorteil, den die Patienten durch eine Therapie mit Clopidogrel erfahren hatten, nicht durch eine gleichzeitige Therapie mit Statinen beeinträchtigt wurde. Vielmehr war es so, dass die Gruppe der Patienten ohne Statin weniger von der Clopidogreltherapie profitierte.[70] Ferner erbrachte eine retrospektive Analyse von Patienten mit akutem Koronarsyndrom eine deutliche Reduktion von Mortalität und Morbidität durch die gleichzeitige Gabe von Statinen gegenüber der Clopidogrelmonotherapie.[46] Dabei zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen der Gruppe der CYP3A4 metabolisierten und der nicht CYP3A4 metabolisierten Statine.

Die Diskrepanz zwischen all diesen experimentellen und klinischen Studien und den Ergebnissen von Lau et al. kann mehrere Ursachen haben. Erstens, Lau et al. nutzten in ihrer Interaktionsstudie keinen standardisierten und evaluierten Funktionstest für Thrombozyten. Zweitens, der Effekt der Atorvastatintherapie auf die Thrombozyten wurde in einer Kontrollgruppe nicht separat beobachtet. Dies ist wichtig, da Atorvastatin selbst Thrombozyten inhibieren kann, und der Effekt von Clopidogrel an einem bereits gehemmten Thrombozyten nicht so groß ist, wie an einem Thrombozyten ohne Hemmung. Drittens, Clopidogrel wird noch an einer Vielzahl hepatischer CYP450-Isoenzyme metabolisiert, die nicht alle durch Atorvastatin inhibiert werden können. Darüber hinaus stellten Taubert et al. fest, dass der die Geschwindigkeit bestimmende Schritt der Clopidogrelaktivierung die Resorption im Darm und nicht die Metabolisierung in der Leber ist.[85]

Nachdem nun experimentell als auch klinisch nicht von einer Arzneimittelinteraktion

ausgegangen werden kann, stellt sich zusätzlich die Frage, ob sich die antithrombozytären Eigenschaften von Clopidogrel und Atorvastatin ergänzen. Die Ergebnisse der hier vorliegenden Arbeit zeigen eindeutig, dass gegenüber der Clopidogrelmonotherapie unter der Kombinationstherapie eine signifikant geringere ADP-induzierte P-Selectin-Dichte auf den Thrombozyten vorhanden war. Ebenso war bei der Kombinationstherapie die TRAP-induzierte thrombozytäre Thrombospondinexpression signifikant niedriger als bei der Clopidogrelmonotherapie. Dies ist ein deutliches Zeichen dafür, dass die Kombination aus Atorvastatin und Clopidogrel die Thrombozyten wirksamer inhibiert als die alleinige Clopidogrelgabe. Ähnliche Resultate erhielten Vinholt et al.[87] Sie beobachteten eine Zunahme der Thrombozytenaggregation während einer Clopidogreltherapie, wenn die gleichzeitige Gabe von Statinen pausiert wurde.[87] Diese fiel bei CYP3A4 metabolisierten Statinen tendenziell deutlicher aus, als bei nicht CYP3A4 metabolisierten Statinen. Ein weiteres Zeichen für die kombinierte Plättcheninhibition von Clopidogrel und Atorvastatin zeigte sich in einer Studie zur Beurteilung von pleiotropen Effekten einer kombinierten lipidsenkenden Therapie mit Ezetimibe und Atorvastatin.[J] Es wurde beobachtet, dass das Ausmaß der Reduktion der Thrombozytenreaktivität von der Dosis des Atorvastatins abhängig war.[J] Auch die retrospektiven Daten aus der CREDO-Studie, die eine stärkere Reduktion von Mortalität und Morbidität durch die gleichzeitige Gabe von Statinen und Clopidogrel nachweisen, sind ein weiterer Hinweis darauf, dass sich die inhibierenden Eigenschaften beider Substanzen synergistisch auf die Thrombozytenfunktion auswirken. Patienten, die mit einem Statin und Clopidogrel behandelt werden, sind damit hinsichtlich einer effektiven Thrombozyteninhibition besser behandelt als Patienten mit einer Clopidogrelmonotherapie.

5.4 Clopidogrel bei Patienten mit KHK und multipler Medikation

Die Patienten mit koronarer Herzkrankheit, mit Atorvastatintherapie und weiteren Medikamenten wiesen 96 Stunden nach Beginn der Clopidogreltherapie eine verminderte Degranulation und Vollblutaggregation auf, verglichen mit dem Zeitpunkt vor der Therapie. Damit sind in unseren Experimenten keine Hinweise auf eine reduzierte Wirksamkeit von Clopidogrel bei dieser Probandengruppe zu beobachten. Darüber hinaus ist bei den KHK-Patienten bereits vor der Clopidogreltherapie die pathophysiologisch erhöhte Thrombozytenaktivierbarkeit auf ein mit Gesunden vergleichbares Level abgesenkt worden. Verschiedene Arbeitsgruppen zeigten, dass dies ist nicht dem Aspirin, sondern zu einem großen Teil der Wirkung von Atorvastatin zuzuschreiben ist.[35,53] Ein dosisabhängiger Effekt des Atorvastatins konnte wegen der geringen Anzahl der Patienten nicht gefunden werden.

Trotz der Vorbehandlung mit Atorvastatin sind bei den KHK-Patienten die Blutplättchen noch besser stimulierbar als bei den entsprechend vorbehandelten Gesunden. Ein weiterer inhibierender Effekt durch das Clopidogrel war bei den KHK-Patienten deutlicher zu sehen, als bei den gesunden Probanden. Dies ist auch ein Hinweis für die dringende Notwendigkeit einer effektiven Thrombozyteninhibition bei diesen Patienten.