UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Aus der Klinik für Allgemeine und Interventionelle Kardiologie des Universitären Herzzentrums Hamburg

Direktor: Prof. Dr. Stefan Blankenberg

Thrombozytenaktivierung im akuten Koronarsyndrom gemessen mittels Platelet Adhesion Assay

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin /Zahnmedizin

an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:

Philipp Peitsmeyer

aus Bünde

Hamburg 2013

Angenommen von der

Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 28.04.2014

Veröffentlicht mit Genehmigung der

Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

Prüfungsausschuss, der Vorsitzende: Prof. Dr. K. Sydow

Prüfungsausschuss, zweite Gutachterin: PD Dr. R. Bonin-Schnabel

Prüfungsausschuss, dritter Gutachter: PD Dr. F. Langer

1. EINLEITUNG **1**

1.1. Thrombozyten *1*

1.1.1. Morphologie der Thrombozyten *1*

1.1.2. Die Membranrezeptoren der Thrombozyten *5*

1.2. Die koronare Herzerkrankung *8*

1.2.1. Das akute Koronarsyndrom *10*

1.2.2. Thrombozyten im akuten Koronarsyndrom *12*

1.2.3. Therapie des akuten Koronarsyndroms *13*

1.3. Antithrombozytäre Substanzen *14*

1.3.1. Acetylsalicylsäure *14*

1.3.2. ADP-Rezeptor-Antagonisten *15*

2. FRAGESTELLUNG UND ZIELSETZUNG **16**

3. MATERIAL UND METHODEN **17**

3.1. Das Studienkollektiv *17*

3.2. Probenentnahme *18*

3.3. Der Platelet Adhesion Assay *19*

3.4. Statistische Analysen *22*

4. ERGEBNISSE **23**

4.1. Der Einfluss der Thrombozytenzahl auf das Platelet Adhesion Assay *23*

4.2. PADA-AI bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom *24*

4.3. Die thrombozytären Größenindizes im ACS *24*

4.3.1. Das Mean Platelet Volume im ACS *25*

4.3.2. Die Platelet Deviation Width und das Platelet Large Cell Ratio im ACS *26*

4.4. Der Einfluss von Clopidogrel und Heparin auf den PADA-AI und Plättchengrößenindizes im ACS *28*

4.5. Der Einfluss kardialer Risikofaktoren auf den PADA-AI und thrombozytäre Größenindizes *29*

4.6. Der Einfluss der Schmerzdauer auf den PADA-AI im ACS *31*

5. DISKUSSION **33**

5.1. Der Einfluss der Thrombozytenzahl auf den PADA-AI *33*

5.2. Thrombozytenaktivierung und akutes Koronarsyndrom *33*

5.3. Thrombozytäre Größenindizes im akuten Koronarsyndrom *36*

5.4. Der Einfluss von Clopidogrel auf das Platelet adhesion assay *39*

5.5. Der Einfluss von Clopidogrel auf thrombozytäre Größenindizes *41*

5.6. Der Einfluss von Heparin auf das Platelet Adhesion Assay *41*

5.7. Der Einfluss kardialer Risikofaktoren auf den PADA-AI. *42*

5.8. Der Einfluss der Schmerzdauer auf den PADA-AI und thrombozytäre Größenindizes 45

5.9. Limitationen 45

6. ZUSAMMENFASSUNG 48

7. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS 49

8. KONGRESSBEITRÄGE 50

9. LITERATURVERZEICHNIS 51

10. LEBENSLAUF 60

11. DANKSAGUNG 61

12. EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG 62

1. Einleitung

1.1. Thrombozyten

Blutplättchen erfüllen verschiedene Funktionen in der Blutstillung und Immunabwehr, darüber hinaus haben sie Teil an der Entstehung und Aufrechterhaltung einer Reihe von Erkrankungen, darunter auch akute thrombembolische Geschehen wie das akute Koronarsyndrom. Ihre vielfältige Involvierung ist bisher nur teilweise verstanden und die direkte Untersuchung der thrombozytären Funktionen ist störanfällig und daher schwierig.

In der vorliegenden Untersuchung sollte mittels eines einfach anzuwendenden Tests der globalen Thrombozytenfunktion deren Aktivität in Zusammenhang mit dem akuten Koronarsyndrom untersucht werden.

1.1.1. Morphologie der Thrombozyten

Thrombozyten stellen den kleinsten korpuskulären Bestandteil im zirkulierenden Blut dar. Vormals als ausgestoßene Zellkerne missverstanden wurden sie um 1860 von Zimmermann als eigene Blutbestandteile identifiziert und 1886 von Bizzozero erstmals in ihrer Funktion beschrieben. Bizzozero konnte experimentell die Bildung von Thromben an einem Faden beschreiben, den er durch ein Mesenterialgefäß zog. Darüber hinaus wurden ebenfalls die thrombozyten-bildenen Megakaryozyten im Knochenmark erstmals durch Bizzozero als „cellule giganti nucleo centrale gemmatione“, also als Riesenzellen mit knospentreibendem Kern beschrieben. Den Zusammenhang zwischen der Abscherung der Thrombozyten und den knochenmarksständigen Megakaryozyten konnte Wright erstmals im Jahre 1910 nachweisen (1; 2).

Durch Fragmentation in Form einer Einstülpung der Plasmamembran werden pro Stunde etwa 250 Milliarden Thrombozyten gebildet. Jeder Megakaryozyt bildet durch die Stimulation des in Leber und Niere synthetisierten Thrombopoetin zwischen 1000 und 3000 Thrombozyten, hierbei werden durch Scherkräfte die gebildeten „proplatelets“ in das periphere Blut ausgeschwemmt. Der genaue Mechanismus der Thrombozytenbildung ist bisher nicht vollständig geklärt.

Im peripheren Blut zirkulieren 150.000-300.000 Blutplättchen pro Mikroliter, sich ca. 30% in der Milz und weitere 10% in einem schnell mobilisierbaren intravaskulären

Pool befinden. Im Mittel beträgt die Lebensdauer eines Thrombozyten bis zu seiner „Mauserung“ durch in Milzsinus ansässigen Makrophagen 7-10 Tage.

Ein einzelner Thrombozyt weist eine diskoide Form auf, sein Durchmesser beträgt zwischen 1 und 3,5 µm bei einer Dicke von 0,8 bis 1,8 µm und einem Volumen zwischen 4 und 10 fl (μm^3), das Einzelgewicht beträgt dabei etwa 10 pg.

Mit Hilfe der Elektronenmikroskopie konnte die komplexe Ultrastruktur und Funktion der Blutplättchen zunehmend dargestellt und verstanden werden. Entsprechend morphologischen Kriterien findet eine Unterteilung in vier Zonen statt. (Abb. 1)

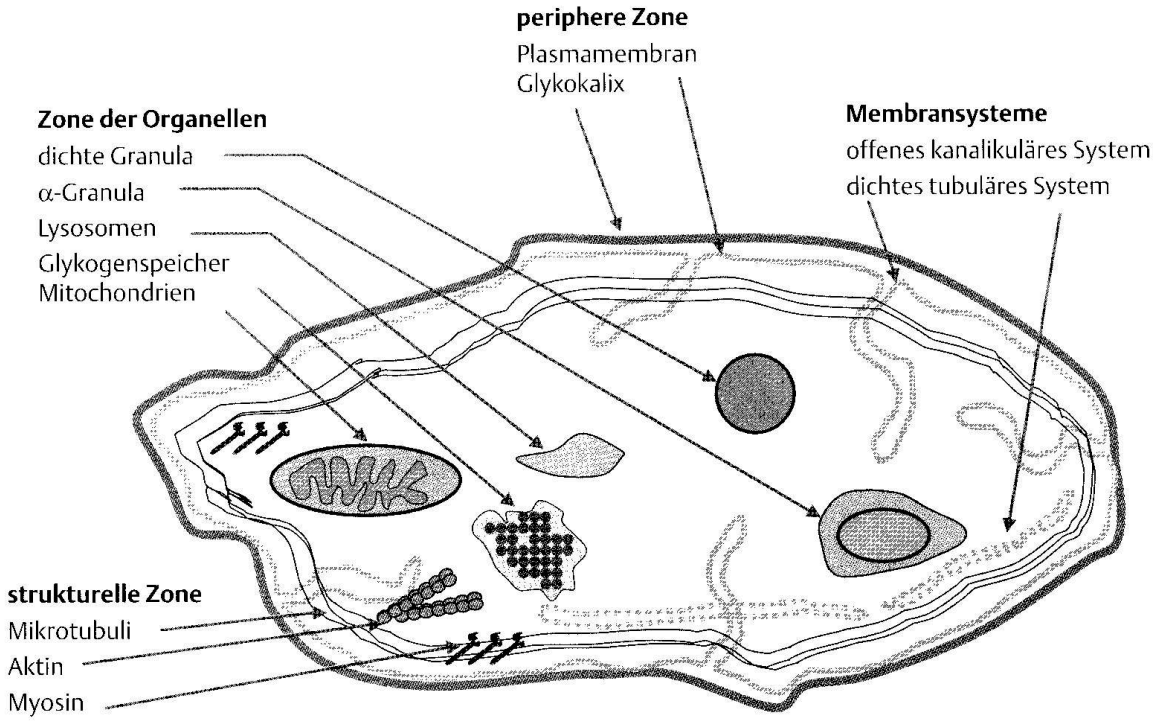

Abbildung 1: Morphologie der Thrombozyten (nach Gawaz 1999)[1]

Die periphere Zone, oder äußere Hülle des Thrombozyten wird von der Glykokalix gebildet, diese besteht aus verschiedenen Proteinen, Glykoproteinen und Mukopolysacchariden, die in eine Phospholipiddoppelschicht eingebettet sind. Neben den Rezeptoren der Thrombozytenoberfläche, welche die Vermittlung der Adhäsion, Aktivierung und Aggregation der Zellen übernehmen befinden sich hier zusätzlich

1 Gawaz, M. (1999). Das Blutplättchen. Physiologie, Pathophysiologie, Membranrezeptoren, antithromobzytäre Wirkstoffe und antithrombozytäre Therapie bei koronarer Herzerkrankung, Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag.

verschiedene Plasmaeiweisse wie unter anderen Immunglobuline (IgG / IgM), Gerinnungsfaktoren (Faktor V / Faktor VIII / Faktor X), sowie Fibrinogen, Histokompatibilitätsantigene (HLA) und Ionenpumpen (Na^+/K^+-ATPase).

Die Membran weißt ein verzweigtes Kanalsystem auf, welches als Membran Reservoir dient und im Rahmen einer Aktivierung des Thrombozyten enthaltene Rezeptoren an der Zelloberfläche bereitstellen kann. Die strukturelle Zone, oder Sol-Gel-Zone beinhaltet das Zytoskelett der Blutplättchen und ist sowohl für die diskoide Ruheform und die Trennung der einzelnen Zellorganellen voneinander, wie auch im Rahmen der Plättchenaktivierung für die Ausbildung der Pseudopodien („shape change“) und die Stabilisierung der Aggregation verantwortlich.

In der dritten Zone befinden sich die Zellorganellen der Thrombozyten, welche sich aus Mitochondrien und den verschiedenen Speichergranula, sowie Lysosomen und Peroxisomen zusammensetzen. Die Granula bilden den sekretorischen Apparat der Blutplättchen, sie werden morphologisch nach ihrer Elektronendichte eingeteilt. Tabelle 1 gibt einen Überblick über die in den Granula gespeicherten Inhalte.

Die elektronendichten δ-Granula oder dense-bodies machen nur etwa 1% des thrombozytären Zellvolumens aus, ihre Inhalte dienen der intrazellulären Signalverstärkung im Rahmen der Zellaktivierung. Circa 15% des Volumens eines Thrombozyten wird durch die weniger dichten α-Granula gebildet, deren Inneres neben Wachstums- und Koagulationsfaktroen im Wesentlichen aus Oberflächenrezeptoren besteht, die im Zuge der Aktivierung an die Zelloberfläche transportiert werden.

Im Weiteren lassen sich in Thrombozyten zytochemisch Lysosomen und Mikroperoxisomen nachweisen, welche denen anderer Zelltypen in Form und Inhalt ähneln.

Das vierte Kompartiment des Thrombozyten bildet das Membransystem, welches sich wiederum aus zwei Anteilen zusammensetzt. Zum einen dem offenen kanalikulären System, welches mit der thrombozytären Plasmamembran verbunden ist und der Membranvergrößerung bei der Zellaktivierung und der Sekretion dient. Zum anderen dem dichten tubulären System, welches den intrazellulären Kalziumspiegel reguliert.

Dichte Granula („dense bodies“)	α-Granula	Lysosomen
ATP	α1-Antitrypsin	α-Arabinoside
ADP	α2-Antiplasmin	β-Galaktosidase
Ca2+	α2-Makroglobulin	β-Glukoronidase
Serotonin	C1-Esterase-Inhibitor	N-Acetylglucosaminidase
Phosphat	Fibrinogen	Elastase
Guaninnukleotide	Fibronektin	Kollagenase
Thromboxan A2	Von-Willebrand-Faktor	Kathepsin
	Vitronektin	Peptidase
	Glykoprotein IIb-IIIa	
	Platelet derived growth factor	
	Epidermal growth factor	
	Transformin growth factor β	
	Endothelial cell growth factor	
	Interleukin 1	
	CD40-Ligand	
	Plättchenfaktor 4	
	β-Thromboglobulin	
	High molecular weight kininogen	
	Plasminogen	
	Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-1	
	Faktor V	
	Faktor XI	
	Protein S	

Tabelle 1: Inhalt der thrombozytären Speichergranula (modifiziert nach Gawaz 1999)[2]

[2] Gawaz, M. (1999). Das Blutplättchen. Physiologie, Pathophysiologie, Membranrezeptoren, antithromobzytäre Wirkstoffe und antithrombozytäre Therapie bei koronarer Herzerkrankung, Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag.

1.1.2. Die Membranrezeptoren der Thrombozyten

Die Aktivierung, Adhäsion und Aggregation als Ausdruck der physiologischen Funktionen des Thrombozyten werden über verschiedene membrangebundene Rezeptoren vermittelt. Bei diesen quasi Kommunikationsinstrumenten der Zellen handelt es sich größtenteils um Glykoproteine, deren Liganden Proteine, Enzyme, Hormone, oder auch physikalische Einwirkung sein können. Nach Ligandenbindung wird über „second messenger“ eine bestimmte Stoffwechselantwort ausgelöst.

Die unterschiedlichen Glykoproteine können entsprechend ihrer molekularen Struktur in vier Subgruppen unterteilt werden. Tabelle 2 gibt einen Überblick über Rezeptoren und die jeweils wesentlichen Funktionen und Liganden.

Als Integrine wird eine Gruppe von heterodimeren Rezeptorproteinen bezeichnet, die sich aus jeweils einer α- und einer β-Untereinheit zusammensetzen. Diese Untereinheiten bilden eine größere extrazelluläre Domäne, einen transmembranösen Bereich und einen kurzen intrazytoplasmatischen Anteil. Integrine verfolgen Funktionen in der Interaktion zwischen Zellen, sowie in der Interaktion zwischen Zelle und extrazellulärer Matrix. Bisher konnten auf der Oberfläche der Thrombozyten fünf verschiedene Integrine identifiziert werden die in unterschiedlicher Häufung exprimiert werden.

Der am häufigsten auf der Thrombozytenoberfläche gefundene Rezeptor vom Integrintyp ist der Fibrinogenrezeptor (GPIIb/IIIa-Rezeptor) (Abb. 3), der Name ergibt sich aus der Angabe der Proteinbanden in der gelelektrophoretischen Auftrennung (3). Die enorme Bedeutung des GPIIb/IIIa-Rezeptors (Integrin α2bβ3) für die Blutgerinnung wurde bereits zu Anfang des vergangenen Jahrhunderts deutlich, 1918 beschrieb Glanzmann die „Glanzmann-Thrombasthenie“, die auf einem erblichen Defizit des Rezeptors beruht und zur Blutungen der Haut und Schleimhäute führt. Integrin α2bβ3 macht etwa 1,5% des Gesamtproteingehaltes eines Blutplättchens aus und wird 50-80.000 mal pro Zelle exprimiert. Etwa 20-30% der Rezeptoren sind im inaktivierten Zellzustand in Granula und dem oberflächengebundenen Membransystem gespeichert und werden nach Aktivierung des Thrombozyten zusätzlich an die Oberfläche transportiert. Eine Bindung des Hauptliganden Fibrinogen in seiner gelösten Form an den Rezeptor ist erst nach dessen Aktivierung möglich, die eine Konformationsänderung und damit die

Freilegung der Bindungsstelle im Rezeptor nach sich zieht. Diese Konformationsänderung erlaubt eine schnelle Reaktion der Zellen auf ihre Umgebung und kann sowohl über sogenanntes „outside-in signaling“, das heißt die Aktivierung über Bindung eines Liganden an den ruhenden Rezeptor und Auslösung einer intrazellulären Signaltransduktion, wie auch über „inside-out signalig“, die Überführung des Rezeptors in seine aktive Form durch eine vorangegangene intrazelluläre Signalkaskade geschehen. Im Falle des GPIIb/IIIa-Rezeptors stellt unter physiologischen Bedingungen der zweite Weg den häufigeren Aktivierungsmechanismus dar. Indem der GPIb-Rezeptor an seinen Hauptliganden den von-Willebrabrand-Faktor bindet, der an subendotheliales Kollagen gebunden ist, kommt es zur Auslösung einer intrazellulären Signalkaskade, die die Aktivierung des Fibrinogenrezeptors nach sich zieht. Die initiale Bindung des Fibrinogen an den Rezeptor ist noch reversibel, erst nach Degranulation und Freisetzung zusätzlicher Faktoren wie ADP und Thromboxan A_2 entstehen zwischen den Thrombozyten irreversible fibrinogenvermittelte Bindungen, die als sekundäre Aggregation bezeichnet werden.

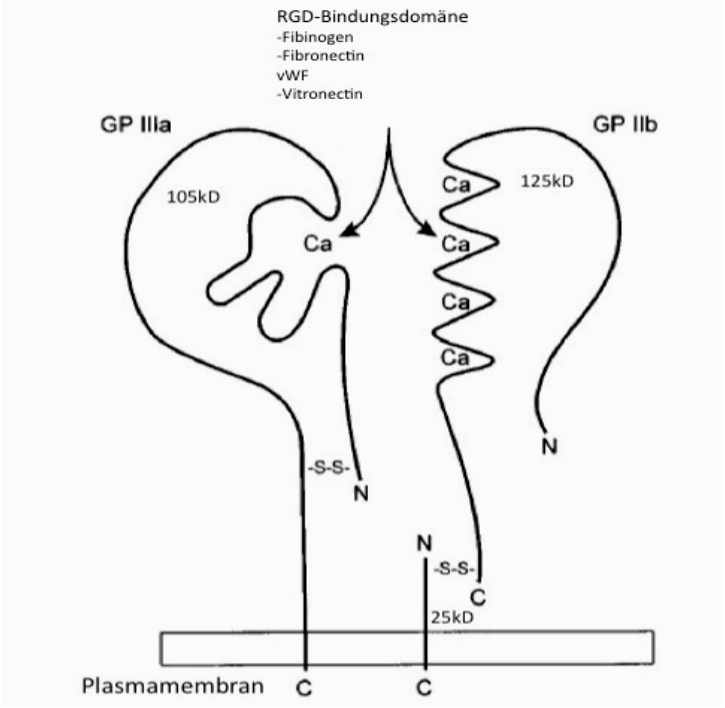

Abbildung 2: Schematische Darstellung des GPIIb/IIIa Rezeptors (modifiziert nach Tcheng 1998) (RGD: Arginin-Glycin-Asparat; vWF: von-Willebrand-Faktor)[3]

[3] Madan, M., Berkowitz, S. D. and Tcheng J. E. (1998). Glycoprotein IIb/IIIa Integrin Blockade, Circulation 1998;98;2629-2635

Eine weitere Gruppe der Oberflächenrezeptoren der Thrombozyten bilden die leuzinreichen Glykoproteine. Der GPIb-V-IX-Komplex (IbαIbβ/V/IX) stellt mit etwa 25.000 Kopien auf der Thrombozytenoberfläche den zweithäufigsten Rezeptor dar, er stellt den wichtigsten Rezeptor für Kontakt zum von-Willebrand-Faktor dar, damit kommt ihm eine besondere Bedeutung bei der primären Hämostase zu. Der Kontakt des Rezeptorkomplexes mit subendothelialem vWF löst ein Anhaften des Thrombozyten, sowie eine intrazelluläre Ereigniskaskade mit Anstieg der Kalziumkonzentration und Aktivierung von Proteinkinasen aus.

Darüber hinaus können auf der Thrombozytenoberfläche Selektine nachgewiesen werden, diese werden unterteilt in E-, L- und P-Selektine. Die auf den Thrombozyten zu findenden P-Selektine werden sowohl in den Weibel-Palade-Körperchen der Endothelzellen gefunden, als auch in den α-Granula der Blutplättchen. Nach Degranulation ermöglichen sie eine transiente Bindung an Epithelzellen, sowie die Adhäsion an Leukozyten. Sie tragen somit zur sekundären Hämostase, sowie zu inflammatorischen Prozessen bei. Durch ihre aktivierungsgebundene Ausschüttung können die P-Selektine im Plasma als Marker der Thrombozytenaktivierung genutzt werden (4).

Als weitere Rezeptorklasse werden Adhäsionsrezeptoren vom Immunglobulin-Typ beschrieben. Zwei unterschiedliche Rezeptoren sind bisher bekannt „platelet-endothelial cell adhesion molecule-1“ (PCAM-1) und das „intracellular adhesion molecule-2“ (ICAM-2). Die Anzahl der PCAM-1 Rezeptoren wird nach Zellaktivierung durch Degranulation erhöht, sowohl PCAM-1 als auch ICAM-2 dienen zum einen der Thrombozytenadhäsion an das Subendothel, wie auch der Interaktion der Thrombozyten mit Leukozyten und der durch Thrombozyten-vermittelten Immunreaktion.

Klassifizierung	Klassifizierung (elekrophoretisch)	CD-Nomenklatur	Rezeptoranzahl/ Thrombozyt	Liganden-spezifität	Funktion
Integrine					
$\alpha_2\beta_1$	GPIa-IIa	CD49b	1000	Kollagen, Laminin	Adhäsion
$\alpha_5\beta_1$	GPIc-IIa	CD49c	1000	Fibronektin	Adhäsion
$\alpha_6\beta_1$	GPIc-IIa	CD49f	1000	Laminin	Adhäsion
$\alpha IIb\beta_3$	GPIIb-IIIa	CD41-CD61	60000-100000	Fibrinogen, vWF, Fibrinonektin Vitronektin	Aggregation / Adhäsion
$\alpha_v\beta_3$	GPαv-IIIa	CD51-CD61	100	Vitronektin Fibrinogen Fibrinonektin vWF	Adhäsion
Leuzinreiche Glykoproteine					
	GPIb-V-IX	CCD42a-b-c	225000	vWF	Adhäsion
	GPIV	CCD36	115000-25000	Kollagen	Adhäsion
Selektine					
	P-Selektin	CD62P	12000	PSGL-1 /GPIb	Leukozyten-Endothel-adhäsion
Immunglobulin-typ-Rezeptoren					
	ICAM-2	CD102	5000	Fibrinogen	Leulozyten-interaktion
	PCAM-1	CD31	3000		Zelladhäsion

Tabelle 2: Übersicht der thrombozytären Membranglykoproteine (modifiziert nach Gawaz, 1999)[2] (GP = Glycoprotein; CD = cluster of differentiation; ICAM = "intracellular adhesion molecule"; PCAM = „platelet-endothelial cell adhesion molecule"; PSGL = P-Selectin glycoprotein ligand; vWF = von-Willebrand-Faktor)

1.2. Die koronare Herzerkrankung

Als koronare Herzerkrankung (KHK) wird die Manifestation einer Atherosklerose an den Koronararterien verstanden, das hieraus resultierende Missverhältnis zwischen Sauerstoffangebot und –bedarf bedingt eine Unterversorgung des Herzmuskels und dessen Funktionseinschränkung. Daraus entstehende Komplikationen, wie Herzinsuffizienz und Herzstillstand stellen die häufigsten Todesursachen in Deutschland und den anderen westlichen Industrienationen dar (5). Eine signifikante

[2] Gawaz, M. (1999). Das Blutplättchen. Physiologie, Pathophysiologie, Membranrezeptoren, antithromobzytäre Wirkstoffe und antithrombozytäre Therapie bei koronarer Herzerkrankung, Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag.

Gewebeminderperfusion wird ab einer Lumeneinengung einer epikardialen Herzkranzarterie auf weniger als 50% angenommen (6).

Die Wahrscheinlichkeit im Laufe des Lebens eine koronare Herzerkrankung zu entwickeln beträgt für Frauen 32%, für Männer nahezu 50% (7). Dabei spielen zusätzliche individuelle Risikofaktoren zur Einschätzung eine große Rolle. Diese werden in verschiedene Klassen eingeteilt, die den Grad der Krankheitsassoziation sowie die therapeutische Beeinflussbarkeit widerspiegeln. Das individuelle Risiko kann anhand von „Scoring"-Systemen auf der Basis dieser Risikofaktoren abgeschätzt werden (8, 9).

Zu Faktoren der Klasse I (epidemiologisch gesicherter Zusammenhang / therapeutische Beeinflussbarkeit) gehören unter anderem Nikotinkonsum (10) und arterieller Hypertonus (11). Unter Klasse II (geringerer Evidenzgrad) finden neben weiteren Diabetes mellitus (12) und Adipositas (13). Faktoren der Klasse III (Assoziation ohne eindeutigen Nachweis einer therapeutischen Beeinflussbarkeit) sind beispielsweise Alkoholkonsum und Depression. Klasse IV Faktoren (epidemilogisch gesicherte Assoziation / keine therapeutische Beeinflussbarkeit) sind neben anderen Alter und Geschlecht (14).

Heute gilt als gesichert, dass es sich bei der Atherosklerose um eine multifaktorielle chronisch-inflammatorische Systemerkrankung handelt (15; 16), die ihren Ursprung in einer, durch einige der oben dargestellten Risikofaktoren induzierte und modulierte Funktionsstörung des Endothels nimmt. Das durch Faktoren wie Dyslipidämie und eine gesteigerte Plasmakonzentration proinflammatorischer Zytokine veränderte Endothel erhöht zum einen seine Permeabilität für Lipoproteine, zum anderen die Sekretion endothelialer Adhäsionsmoleküle. Hieraus resultiert die Adhäsion und Einwanderung von inflammatorischen Zellen und eine Akkomodation von Lipiden und die Bildung sog. Schaumzellen. Dies hat eine progrediente Lumeneinengung mit daraus resultierender Verminderung des Blutflusses und Erhöhung des Scherstresses zur Folge. Im Rahmen der geschilderten Prozesse entsteht eine fibröse Membran, die das Gefässlumen von dem nekrotischen, lipidreichen subendothelialen Raum abgrenzt. Eine Erosion oder Ruptur dieser Kappe führt zur Freilegung der subendothelialen Matrix, wodurch die darin enthaltenen Proteine (u.a. Kollagen und von-Willebrand-Faktor) mit dem zirkulierenden Blut und somit den Thrombozyten und Gerinnungsproteinen in Kontakt treten. Daraus resultieren eine

Aktivierung der Gerinnungskaskade und ein Verschluss des betroffenen Gefäßabschnittes (Abb. 3).

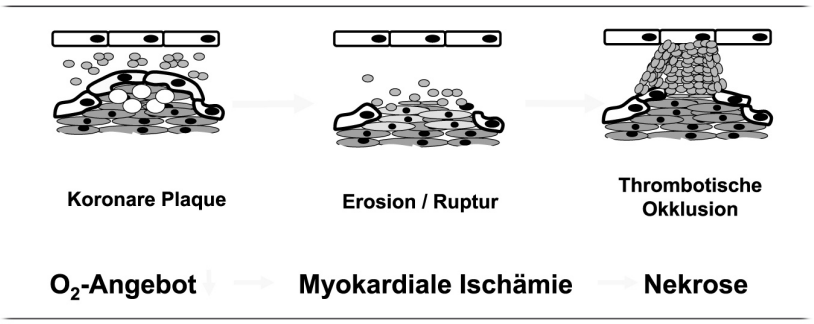

Abbildung 3: Entstehung eines Koronarartierenverschlusses auf dem Boden einer vorbestehenden KHK (nach Langer / Gawanz , 2006)[4]

1.2.1 Das akute Koronarsyndrom

Entsprechend der aktuellen Einteilung wird das ACS unterschieden in die instabile Angina pectoris, den Nicht-ST-Streckenhebungsinfarkt Myokardinfarkt (NSTEMI) und den transmuralen Myokardinfarkt (STEMI) (17), die Unterscheidung erfolgt nach dem Vorhandensein entsprechender EKG-Kriterien, beziehungsweise laborchemischer Veränderungen (Abb. 4).

[4] Langer, F., Gawaz, M. (2006), Die Rolle der Thrombozyten in der Pathophysiologie des akuten Koronarsyndroms, Hämostaseologie 2006; 26: 114–8

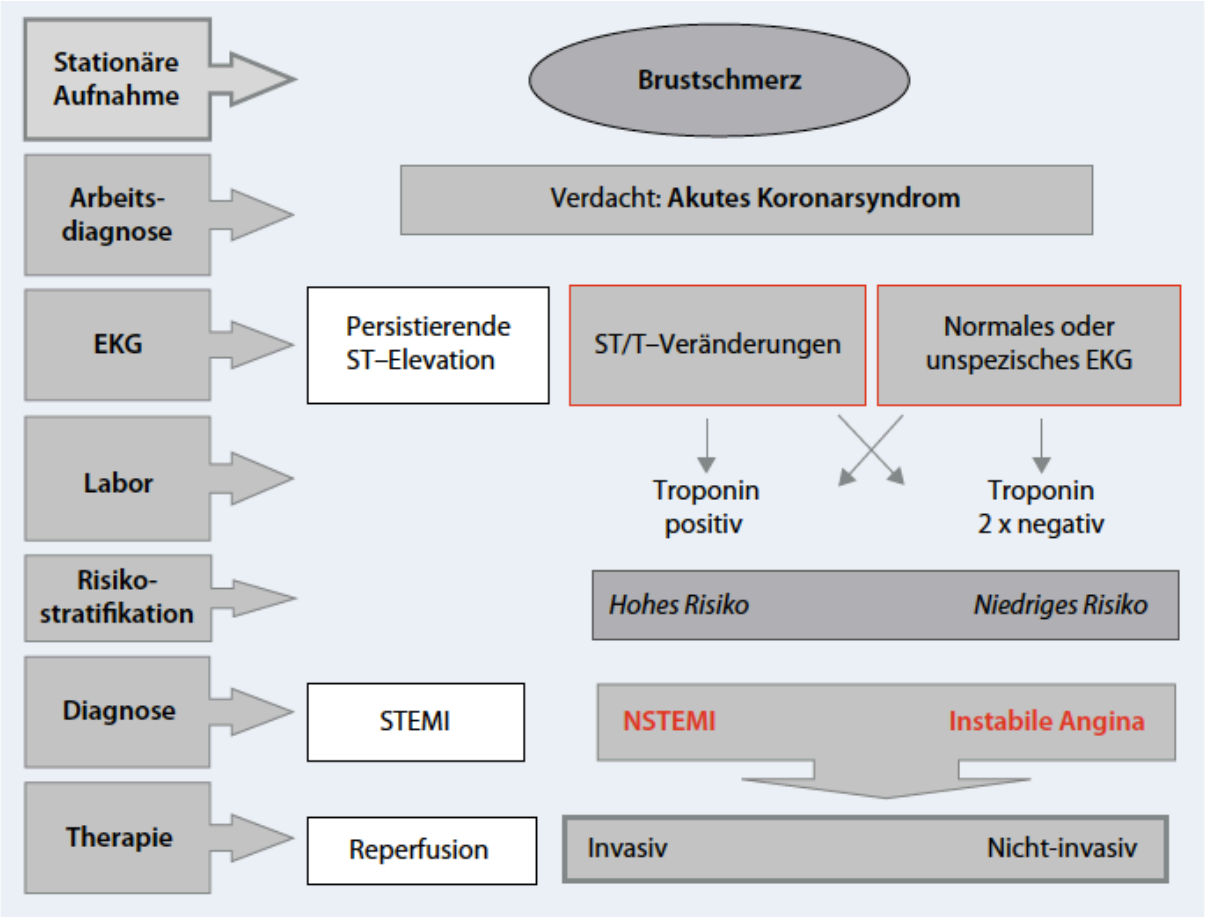

Abbildung 4: Das Spektrum des ACS (aus Hamm 2009)[5]

Als instabile Angina pectoris wird abgrenzend zur stabilen Angina pectoris jedes Neuauftreten der typischen Symptome wie Brustschmerz mit oder ohne Ausstrahlung beschrieben. Sollten die o.g. Beschwerden in körperlicher Ruhe, also ohne Erhöhung des myokardialen Sauerstoffbedarfes auftreten, oder sollte die Symptomatik im Vergleich zur vorherig stabilen Situation an Häufigkeit oder Intensität zunehmen und vermehrt vegetative Begleitsymptome aufweisen, fällt dies ebenfalls in den Bereich der instabilen Angina pectoris. Weiteres Unterscheidungskriterium ist das fehlende oder verzögerte Ansprechen einer vormals stabilen Symptomatik auf die Applikation

[5] C.W. Hamm (2009). „Kommentar zu den Leitlinien der European Society of Cardiology (ESC) zur Diagnose und Therapie des akuten Koronarsyndroms ohne ST- Strecken-Hebung (NSTE-ACS)." Kardiologe 2009 DOI 10.1007/s12181-009-0177-2

von Nitroglycerin. Dauer und Intensität der Beschwerden sind hier nicht mit der Schwere des koronarangiographischen Befundes oder der Prognose korreliert (18).

Die Unterscheidung zwischen einer instabilen Angina pectoris und einem NSTEMI erfolgt durch den laborchemischen Nachweis einer Erhöhung von Biomarkern der kardialen Zellnekrose. Hierbei sind die kardialen Troponine T und I in Sensitivität und Spezifität den klassischen Nekrosemarkern Kreatinkinase (CK) und dem myokardspezifischen Isoenzym CK MB überlegen und erlauben eine schnellere Diagnose und bessere prognostische Vorhersage (19).

Zu anhaltenden monophasischen Hebungen der ST-Strecken im Oberflächen-EKG bei typischer Symptomatik kommt es durch den kompletten Verschluss einer Koronararterie und daraus resultierender transmuraler Ischämie des entsprechenden Versorgungsgebietes nach einer Ischämiezeit von etwa 15-30 Minuten. Diagnostisch wegweisend ist hier neben der typischen Symptomatik das Vorhandensein von ST-Hebungen in mindestens zwei benachbarten Ableitungen über mehr als 0,2 mV bei Männern beziehungsweise 0,15 mV bei Frauen (20). Die diagnostische Spezifität beträgt hier 94% bei einer Sensitivität von 56% (21). Diagnostische Schwierigkeiten sind hierbei beispielsweise durch vorbestehende Leitungsverzögerungen wie den Linksschenkelblock, implantierte Schrittmacher oder auch strikt posterior lokalisierte Ischämien gegeben.

Die Mortalität beträgt nach sechs Monaten 12% und ist in dieser Phase bei STEMI und NSTEMI gleich, die Akutsterblichkeit innerhalb der ersten zwei Stunden wird bei circa 50% beziffert (20).

1.2.2 Thrombozyten im akuten Koronarsyndrom

Wie bereits in Abschnitt 1.2. sowie Abbildung 3 dargestellt, ist die Rolle der Thrombozyten am akuten Koronarsyndrom gut erklärt. So wiesen beispielsweise Patienten welche an einer ischämischen Herzerkrankung verstarben deutlich mehr intrakoronare Thrombozytenaggregate auf, wenn sie im Vorfeld an instabiler Angina pectoris gelitten hatten (22). Auch bei fehlender kompletter Okklusion eines Gefäßes lassen sich intrakoronar Thrombozytenaggregate bei Patienten mit Anginasymptomatik darstellen, diese unterscheiden sich jedoch in ihrer Beschaffenheit und ihrem Alter von denen bei akutem Koronarverschluss im Rahmen eines ST-Streckenhebungsinfarktes. Thromben bei Patienten mit instabiler Angina

ohne kompletten Gefäßverschluss sind reicher an Plättchen und Fibrin, weisen weniger Erythrozyten auf und sind älter und von festerer Konsistenz (23), was ebenfalls auf die kontinuierliche Aktivität der Thrombozyten im Rahmen der Koronarkrankheit hinweist. 1957 beschrieb McDonald erstmalig eine Assoziation verstärkter Koagulopathie des Blutes und koronarer Herzerkrankung, indem unterschiedliche Gerinnungsanalysen bei Patienten mit Angina pectoris mit einem gesunden Kontrollkollektiv verglichen wurden. Insbesondere konnten hier Unterschiede in der Klebrigkeit der Blutplättchen zwischen gesunden Probanden und Patienten mit Angina pectoris oder akutem Myokardinfarkt nachgewiesen werden (24). Auch eine Verkürzung der Blutungszeit bei Patienten mit Nachweis eines Myokardinfarktes verglichen mit Patienten mit Brustschmerz anderer Genese ist beschrieben worden, dies weist ebenso auf eine gesteigerte Thrombozytenaktivität im Sinne der primären Hämostase in Zusammenhang mit einem akuten Koronarsyndrom hin (25).

1.2.3 Die Therapie des akuten Koronarsyndroms

Die Behandlung des akuten Koronarsyndroms ist nach wie vor einer ständigen Weiterentwicklung und Evaluation unterzogen. Leitlinien erstellt von den nationalen und internationalen Fachgesellschaften geben den aktuellen Stand der Therapieempfehlung für die klinische Praxis wieder.

Wie in der Diagnostik wird auch in den Therapieleitlinien beim akuten Koronarsyndrom STEMI und NSTEMI unterschieden. Die Grundprinzipien der Therapie bilden möglichst rasche Reperfusion, Symptomlinderung und Reduktion des myokardialen Sauerstoffverbrauches.

Symptom-lindernd wird der Einsatz von Analgetika, in erster Linie Morphin empfohlen. Zur Reduktion des myokardialen O2-Beadrfes finden die sublinguale Applikation von Nitroglycerin, wie die i.v. Gabe von Beta-Blockern Anwendung.

Zusätzlich zur raschen Gabe antithrombotischer Substanzen (siehe 1.3.) zur Inhibierung der fortschreitenden Thrombozytenaktivierung, wird in den Leitlinien die zusätzliche Verabreichung weiter Antikoagulanzien, wie Fondaparinux und niedermolekularem Heparin zur Blockade der Gerinnungskaskade im Akutgeschehen empfohlen.

Zur Verbesserung der Prognose sollte eine möglichst zeitnahe Reperfusion angestrebt werden. Hier wird der katheter-interventionellen Behandlung mittels Ballondilatation und Stentimplantation in den Leitlinien der Vorzug gegenüber der medikamentösen Thrombolyse gegeben. Zeitlicher Einsatz und die Entscheidung zwischen primär interventioneller Versorgung und operativer Revaskularisation mittels koronarer Bypass-Operation werden von dem individuellen Patientenrisiko abhängig gemacht. In allen Fällen wird die Verabreichung einer dualen antithrombozytären Therapie für die Dauer von zwölf Monaten empfohlen (19).

1.3. Antithrombozytäre Substanzen

Es stehen eine Reihe von Medikamenten mit unterschiedlichen Ansatz- und Wirkprofilen zur Verfügung. In der Therapie des akuten Koronarsyndroms wird aktuell die Kombination zweier Wirkprinzipien zur dualen Thrombozyten-aggregationshemmung zur empfohlen. In der Primär- und Sekundärprävention finden die unterschiedlichen Substanzen entweder kombiniert oder einzeln Einsatz in wechselnder Dosierung und Therapiedauer in Abhängigkeit von der jeweiligen Indikation.

1.3.1. Acetylsalicylsäure (Aspirin / ASS)

Acetylsalicylsäure gilt als die Basis der antithrombozytären Therapien, da sie am längsten eingesetzt und am besten untersucht ist. 1897 in dieser Form synthetisiert, konnte 1953 die thrombozytenhemmende Wirkung beobachtet und beschrieben werden (26; 27).

Jedoch gelang es erst im Jahre 1971 den exakten Mechanismus der Plättchenhemmung zu erklären (28).

Die thrombozytäre Zyclooxygenase-1 (COX-1) katalysiert die Bildung von Prostanoiden aus Arachidonsäure als Vorstufe des proaggregatorisch und vasokonstriktorisch wirkenden Thromboxan A2. Durch Acetylierung eines Serinrestes im katalytischen Zentrum des Enzyms wird dieses irreversibel gehemmt und damit die Produktion von Thromboxan A2 unterbrochen (29). Der Effekt der acetylsalicylat-induzierten Thrombozytenhemmung wird erst durch die Mauserung des gealterten Thrombozyten nach 7-10 Tagen aufgehoben.

Trotz der messbaren Verlängerung der Blutungszeit nach Einnahme von ASS, handelt es sich lediglich um eine leichte Hemmung der Thrombozytenfunktion, die eine Aggregation unter starken Stimuli nicht verhindert (30).

Aufgrund der großen Erfahrung mit der Substanz und der Menge der zur Verfügung stehenden Daten aus großen Studien gilt Aspirin als Mittel der Wahl sowohl in der Therapie thrombotischer Erkrankungen, sowohl in der Vorbeugung bei Risikopatienten, als auch in der Akutversorgung vaskulärer Erkrankungen und in der Sekundärprävention nach stattgehabten thrombembolischen und vaskulären Leiden (31; 32).

Neben dem oben beschriebenen Effekt, der inkompletten Inhibition der Thrombozytenaggregation wurde beobachtet, dass insbesondere Hochrisikopatienten unter der ASS-Monotherapie weiterhin gehäuft kardiovaskuläre Ereignisse erleiden. (33; 34).

Andere Hemmstoffe der Zyklooxygenanse-II, wie das nicht-steroidale Antiphlogistikum Ibuprofen finden aufgrund Reversibilität der Thrombozytenhemmung und einer unter der Einnahme beobachteten Zunahme kardialer Ereignisse keinen Einsatz in der Therapie der KHK (35).

1.3.2. ADP-Rezeptor-Antagonisten

Die Thienopyridine bilden eine Gruppe von irreversiblen Antagonisten am thrombozytären ADP-Rezeptor. Ihre therapeutische Wirkdauer entspricht der Lebensdauer der Thrombozyten.

Die größte Erfahrung besteht in der Substanzgruppe mit Clopidogrel. Clopidogrel liegt als „pro-drug“ vor das bedeutet, dass die Substanz im inaktiven Zustand aufgenommen und erst im Körper in seinen Wirkzustand überführt wird. Nach der oralen Aufnahme werden etwa 85% durch einen hepatischen first-pass Effekt durch Carboxylesterasen inaktiviert. Die Aktivierung erfolgt hepatische Cytochrom P450 Isoenzyme (CYP1A2; CYP2C9; CYP3A4; CYP2C16; CYP3A5; CYP2C); CYP2C19) in einem zweiten Schritt über die Oxidierung zu 2-Oxo-Clopidogrel und die enzymatische Spaltung des Thiolactonringes mit Freilegung einer freien Thiolgruppe, welche über Bildung einer Disulfidbrücke an Cysteinresten des extrazellulären Anteils des thrombozytären $P2Y_{12}$ –Rezeptors diesen irreversibel inaktivieren. Die

Inaktivierung des $P2Y_{12}$ –Rezeptors führt zum Ausbleiben der Inaktivierung der Adenlylatcyclase durch das Binden von ADP an den Rezeptor und somit zu einem Anstieg der cytosolischen cAMP-Konzentration. Das Resultat ist eine fehlende Zellaktivierung durch das Entfallen der Degranulation, des Gestaltwandels und der Aktivierung weiterer Rezeptoren (29, 36; 37; 38).

Die Einführung der dualen Thrombozytenaggregationshemmung hatte eine deutliche Reduktion Mortalität zu Folge (39), jedoch kommt es durch die große interindividuelle Unterschiede im Ansprechen auf Clopidogrel weiterhin zu schwerwiegenden Komplikationen wie Stentthrombosen (40). Der Begriff der Clopidogrel-Resistenz bildet einen Sammelbegriff, der unterschiedliche Möglichkeiten eines Minderansprechens auf eine plättchenhemmende Therapie beschreibt. Zum einen gibt es Anhalt, dass genetische Polymorphismen die intestinale Resorption reduzieren können (41), darüber hinaus zeigen verschiedene Varianten des Cytochrom P450 Isoenzym-Systems in der Leber sowohl laborchemisch, wie auch klinisch nachweisbare Resultate auf die Clopidogreleffektivität (42; 36). Eine Beeinflussung des hepatischen Metabolismus durch die gleichzeitige Einnahme weiterer Pharmaka wurde ebenfalls beschrieben (43).

2. Zielsetzung und Fragestellung:

Die Messung der Thrombozytenaktivität ist komplex und bisher nicht standardisiert. Unterschiedliche Methoden zur Bestimmung der Plättchenaktivität und Messung des Ansprechens auf eingesetzte Pharmaka befinden sich im klinischen Einsatz, diese bedienen sich verschiedener Messverfahren. Die Ergebnisse der unterschiedlichen Verfahren sind nicht miteinander zu vergleichen und zeigen häufig wenig Korrelation mit dem klinischen Verlauf (44; 45).

Ziel der vorliegenden Arbeit war es anhand eines bettseitigen einfachen Testes zur Messung der Thrombozytenadhäsivität Unterschiede bei Patienten mit akuter myokardialer Ischämie und thorakalen Schmerzen anderer Genese nachzuweisen. Zusätzlich zu dem gemessenen Adhäsionsindex wurden ebenso thrombozytäre Größen- und Größenverteilungsindizes als Ausdruck einer Zellaktivierung zwischen

den beiden Diagnosegruppen miteinander verglichen. Darüber hinaus wurden mögliche Einflussfaktoren, sowohl klinischer, wie auch methodischer Art auf die ermittelten Adhäsionsindizes und thrombozytären Verteilungsgrößen untersucht.

3. Material und Methoden

3.1. Das Studienkollektiv

Für die Untersuchung wurden 248 Patienten, welche mit thorakaler Schmerzsymptomatik und dem Verdacht auf akutes Koronarsyndrom (ACS) in der Zentralen Notaufnahme der Universitätsklinik Hamburg Eppendorf aufgenommen wurden nach schriftlicher Einwilligung in die Studie eingeschlossen, die Studie wurde zuvor von der Ethikkommission der Hamburger Ärztekammer genehmigt und wurde entsprechend der Deklaration von Helsinki durchgeführt (46).

Die Diagnose des ACS erfolgte nach den Kriterien der WHO (47; 17), durch Vorliegen typischer Symptome, erhöhten Troponin Werten (Tabelle 2), von ST-Streckenhebungen oder Senkungen, pathologischen Q-Wellen, oder Vorhandensein von „culprit lesions“ in der Koronarangiographie.

Bei 93 Patienten konnte die Diagnose eines ACS gesichert werden. 44 (43,3%) Patienten präsentierten sich mit ST-Streckenhebungen, bei 49 (52,68%) wurde die Diagnose Nicht-ST-Streckenhebungs-ACS laborchemisch gesichert, eine Koronarangiographie erfolgte in 138 Fällen.

Der mediane Schmerzbeginn vor Konsultation lag bei 4,5 Stunden.

Ausgeschlossen wurden Patienten mit traumatischem Thoraxschmerz, stattgehabtem Myokardinfarkt oder kardialer Operation in den letzten vier Wochen vor der Aufnahme, Vorliegen von Perikarditis oder Myokarditis, Patienten mit bekannten Arrhythmien oder schwergradigem arteriellen Hypertonus. Im Weiteren wurden Patienten mit akuten und chronischen Infektionen, der Diagnose einer malignen Tumorerkrankung, Autoimmunerkrankungen, sowie einer Niereninsuffizienz Stadium II oder Atemnot bei bekannter pulmonaler Hypertonie von der Teilnahme ausgeschlossen.

Tabelle 3: Studienkollektiv

	ACS (n = 93 [39%])	NACS (n = 147 [61%])	p-Wert
Alter in Jahren	65,2 ± 11,1	63,8 ± 14,7	0,42
Männer	73 (79%)	95 (65%)	0,03
BMI	27,0 ± 5,4	27,4 ± 5,3	0,54
Nikotinkonsum	23 (24%)	22 (15%)	0,08
Bekannte KHK	36 (39%)	64 (43%)	0,5
Diabetes mellitus	22 (23%)	22 (15%)	0,12
Troponin I (ng/ml)*	0,416 (0,022 – 3,603)	0,005 (0,001 – 0,014)	<0,0001
Herzkatheteruntersuchung	84 (90%)	48 (33%)	<0,0001
Koronarintervention	71 (76%)	15 (10%)	<0,0001

*Median (Interquartilsabstand)

Der Patienteneinschluss erfolgte konsekutiv ohne vorherige Kenntnis der abschließenden Diagnose.

Zwischen den Patientengruppen mit Ausschluss eines akuten Koronarsyndroms (NACS) und Patienten mit akutem Koronarsyndrom fanden sich keine statistisch signifikanten Unterschiede hinsichtlich Alter, Body Mass Index, einer vorbestehenden KHK, oder bekanntem Diabetes mellitus. In der Gruppe der Patienten mit ACS fand sich ein höherer Männeranteil, sowie ein höherer Anteil an Rauchern.

3.2. Probenentnahme

Die Behandlung der Patienten erfolgte entsprechend der den geltenden Leitlinien zur Behandlung des akuten Koronarsyndroms mit oder ohne ST-Streckenhebung (47; 17).

Nach der Vorstellung in der zentralen Notaufnahme erfolgten die Anfertigung eines 12-Kanal-EKGs sowie die erste Blutentnahme.

Nach Aufklärung und schriftlicher Einwilligung des Patienten zur Studienteilnahme erfolgte die Blutentnahme aus einer peripheren Vene (21Gx3/4`` Multifly®; Firma SARSTEDT AG & Co., Nümbrecht, Deutschland). Es wurde bei der Entnahme auf eine möglichst kurze Stauungszeit, sowie die exakte Füllung der

Entnahmebehältnisses (5,0ml 0,106mol/l Trinatriumcitrat-Lösung 0,5ml (1:10) S-Monovette®, Firma SARSTEDT AG & Co., Nümbrecht, Deutschland), sowie möglichst geringe Schaumbildung geachtet. Bei Vorliegen einer Venenverweilkanüle wurde das Blut aus dem kontralateralen Arm entnommen. Während des Transportes wurde auf einen möglichst schonenden Umgang mit der Probe geachtet um eine Aktivierung der Thromobozyten zu vermeiden. Die Plättchenfunktionsmessung erfolgte in einem Zeitfenster von 60 Minuten nach der Abnahme, Messung und Transport erfolgten bei Raumtemperatur.

3.3. Der Platelet Adhesion Assay

Der Platelet Adhesion Assay (PADA) ist eine Blutplättchenfunktionsanalyse, die eine quantitative Aussage über die aktuelle Adhäsivität der Thrombozyten aus einer Vollblutprobe zulässt (48). Das Prinzip des PADA basiert auf der Bindung von Fibrinogen an Thrombozytenoberflächenrezeptoren unter physiologischen Scherbedingungen. Eine, mit einem speziellen Polymerpartikel versehene Blutprobe wird dabei in Bezug zu einer Leerprobe gesetzt.

Darüber hinaus liefert die Methode Plättchengrößenindizes, sowie relative Größenverteilungen innerhalb der gemessenen Probe. Im Weiteren kann mit Hilfe des Assays die Wirkung thrombozytenfunktionshemmender Pharmaka auf die Adhäsivität überprüft und quantifiziert werden. So kann die Wirkung von GPIIb/IIIa-Rezeptorantagonisten und ADP-Rezeptorantagonisten gemessen werden (49).

Die Messung erfolgt aus Citrat-antikoaguliertem Vollblut (3,8%), durch das Fehlen einer umfangreichen Präparation der Probe, wie beispielsweise bei der Durchflusszytometrie wird die durch Oberflächenreibung und durch Interaktion vermittelte Aktivierung der Thrombozyten vergleichsweise gering gehalten. Im Unterschied zu anderen Plättchenfunktionstests, die durch Hinzugabe plättchenaktivierender Substanzen wie ADP, Kollagen oder Arachidonsäure oder durch unphysiologisch hohen Scherraten zur Aktivierung der Thrombozyten und Auslösen der Aggregation arbeiten, bildet das PADA lediglich den aktuellen Funktionszustand der Blutplättchen im Organismus und die Thrombozytenadhäsion ab (50; 51; 52; 53).

Die Ergebnisse des Platelet Adhesion Assay werden nicht beeinflusst vom Geschlecht, vom Hämatokrit in einem Bereich zwischen 25 und 44%, einer Plättchenzahl zwischen 100 und 350 k/µl und einem Fibrinogenspiegel in der Blutprobe zwischen 1 und 5g/l. Das Alter der Probanden zeigte einen geringen Effekt auf die erzielten Werte, mit einem nicht signifikanten Anstieg mit zunehmendem Alter (48).

Zur Durchführung des PADA wird eine Citrat-antikoagulierte Vollblutprobe (5,0ml 0,106mol/l Trinatriumcitrat-Lösung 0,5ml (1:10) S-Monovette®, Firma SARSTEDT AG & Co., Nümbrecht, Deutschland), mit einer definierten Anzahl speziell gestalteter Polymerpartikel versetzt. Einer 100µl Blutprobe werden 10µl Polyphenylmethacrylat-Partikel (HaemoSys® PADA, Platelet ADhesion Assay, JenAffin GmbH, Jena, Deutschland) mit einer Größe zwischen 5,5 und 6,5µm zugesetzt, als Kontrollprobe werden 100µl Citratblut mit 10µl 0,9% Natriumchloridlösung vermischt. Die Polymerpartikel werden durch ihre spezielle Oberflächenbeschaffenheit und Größe schnell von in der Blutprobe befindlichen Fibrinogenmolekülen überzogen.

Beide Proben werden für exakt fünf Minuten auf einen kalibriertem Minischüttler (IKA® Works, Inc. Wilmington, NC, USA, modifiziert JenAffin GmbH, Jena, Deutschland) mit 550 Schüttelbewegungen /min einem Scherstress ausgesetzt, der mit 300 bis 400 sec^{-1} den niedrig normalen Scherkräften in kleinen Arterien des menschlichen Blutkreislaufes entspricht und damit eine Adhäsion entsprechend dem aktuellen Aktivierungszustandes der Thrombozyten vermittelt. Um Abweichung von der gewünschten Schüttelfrequenz zu Vermeiden wird der Minischüttler 20 Minuten vor der Nutzung eingeschaltet, die Schüttelzeit von exakt 5 Minuten muss eingehalten werden um nicht eine primäre Aggregation der Thrombozyten herbeizuführen.

Die durch den Minischüttler erzeugte Scherspannung ermöglicht die Bindung der Thrombozyten an das oberflächengebundene Fibrinogen, insbesondere durch das Integrin GPIIb/IIIa (siehe 1.1.2) (Abb. 5).

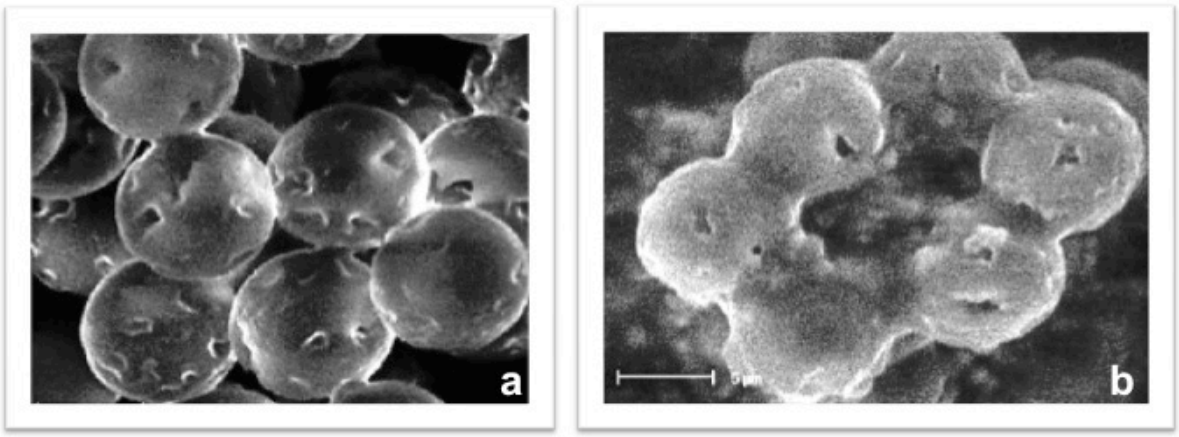

Abbildung 5: a Polymerpatikel; b Polymerpartikel mit anhaftenden Thrombozyten (aus Nowak et. al. 2005)[6]

Im Anschluss an die Inkubation im Minischüttler erfolgt die Thrombozytenzählung mittels Hämatologie-Blutzellzählautomaten (KX-21N; Sysmex Europe GmbH, Hamburg, Deutschland). Es werden sowohl in der Partikelprobe, wie auch in der NaCl-Kontrollprobe die freien, nicht an Polymerpartikel anhaftenden Thrombozyten gezählt und aus dem Ergebnis beider Proben der Adhäsionsindex (AI) gebildet. Die freien Blutplättchen der Partikelprobe werden dabei durch folgende Formel in prozentualen Bezug zur Kontrollprobe gesetzt:

$$AI = \frac{PLT_{Kontrolle} - PLT_{Partikelprobe}}{PLT_{Kontrolle}} \cdot 100$$

Formel 1: AI = Adhäsionsindex; PLT = Thrombozytenanzahl/nl

[6] Nowak G, Wiesenburg A, et al. (2005). „Platelet adhesion assay--a new quantitative whole blood test to measure platelet function.“ Semin Thromb Hemost. 2005;31(4):470-5.

3.4. Statistische Analysen

Zur statistischen Auswertung wurde das Programm StatView 4.5 (Abacus Concepts, Inc., Berkeley, CA, USA) genutzt.

Kategoriale Variablen wurden als Prozentzahlen mit Häufigkeiten, stetige Variablen als Mittelwerte ± 1 Standardabweichung (SD) oder Median mit Interquartilsabstand (IQR) angegeben. Unterschiede zwischen stetigen Variablen wurden mittels Mann-Whitneys U-Test oder dem Wilcoxon-Vorzeichen-Rang Test verglichen, kategoriale Variablen wurden mit Hilfe von Chi-Quadrat-Test und dem exakten Test nach Fisher verglichen.

Als signifikant wurde ein zweiseitiger *p*-Wert von $< 0,05$ angenommen.

4. Ergebnisse

4.1. Der Einfluss der Thrombozytenzahl auf das Platelet Adhesion Assay

Ein Zusammenhang zwischen der Anzahl der Thrombozyten in der gemessenen Blutprobe und den Resultaten des Platelet Adhesion Assay konnte nicht gefunden werden. (Thrombozyten/nl 191 ± 58; min. 89; max. 479)

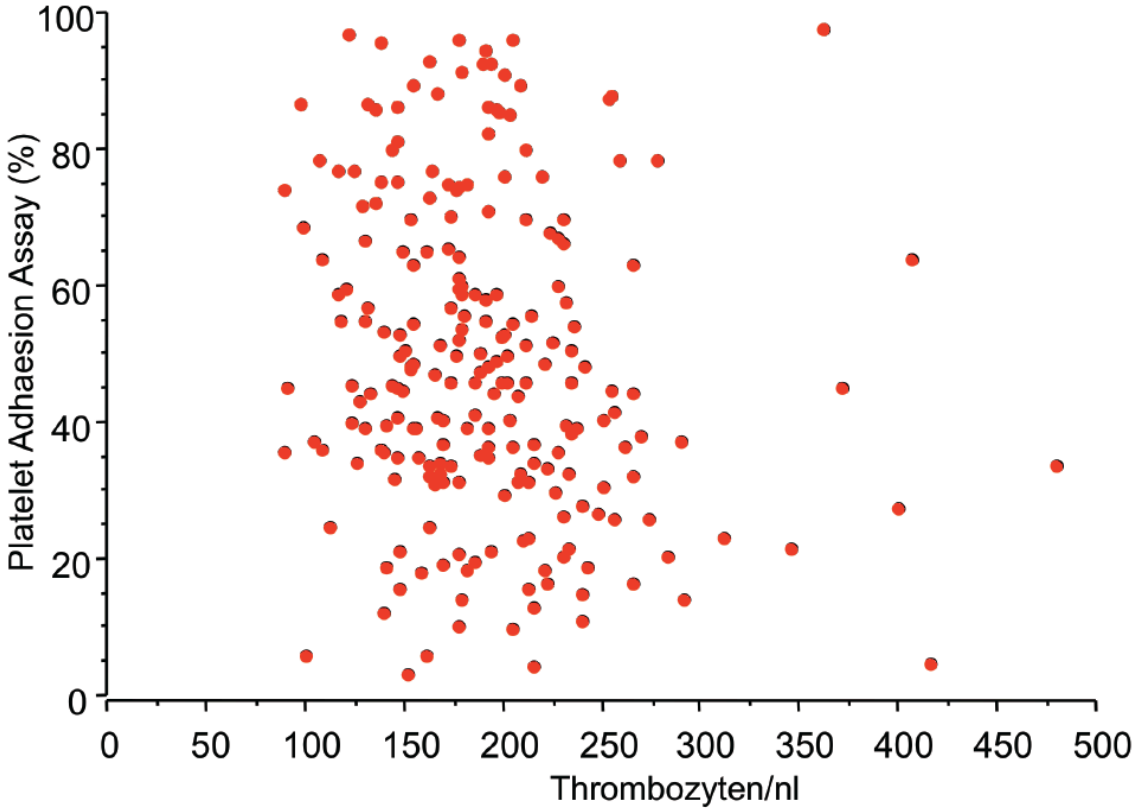

Abbildung 6: Verhältnis Thrombozytenzahl / nl zu Platelet Adhesion Assay Adhäsionsindex (%)

4.2. PADA-AI bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom

Im Vergleich zwischen ACS und Thoraxschmerz anderer Genese konnten signifikant höhere thrombozytäre Adhäsionsindizes für Patienten mit der Diagnose ACS gefunden werden (ACS 54,7 ± 25,4% vs. NACS 44,5 ± 22,1%; p = 0,001).

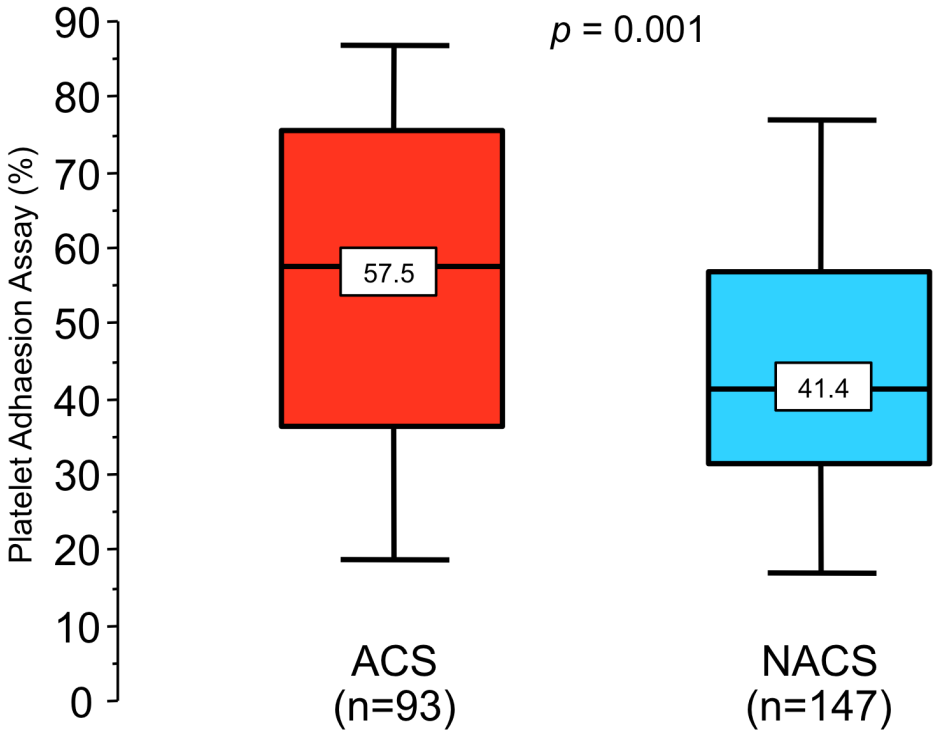

Abbildung 7: PADA Adhäsionsindex (%) im Vergleich Akutes Koronarsyndrom (ACS) mit Thoraxschmerz anderer Genese (NACS)

4.3. Die thrombozytären Größenindizes im ACS

In der Gruppe der ACS Patienten konnten signifikant erhöhte Thrombozytengrößenindizes als Ausdruck der stattgehabten Plättchenaktivierung und Gestaltwandels gemessen werden.

4.3.1. Das Mean Platelet Volume im ACS

Das mittlere Plättchenvolumen, oder mean platelet volume (MPV) gibt die durchschnittliche Größe der Blutplättchen gemessen an ihrem Volumen in Femtolitern (fl = 1 μm^3) an. Es stellt den verlässlichsten thrombozytären Größenparameter dar und spiegelt die thrombozytäre Aktivierung wieder.

Im Vergleich der gebildeten Gruppen zeigten die Patienten mit akutem Koronarsyndrom signifikant höhere Werte des MPV (ACS 9,7 ± 1,0 fl vs. NACS 9,3 ± 1,0 fl; p = 0,003).

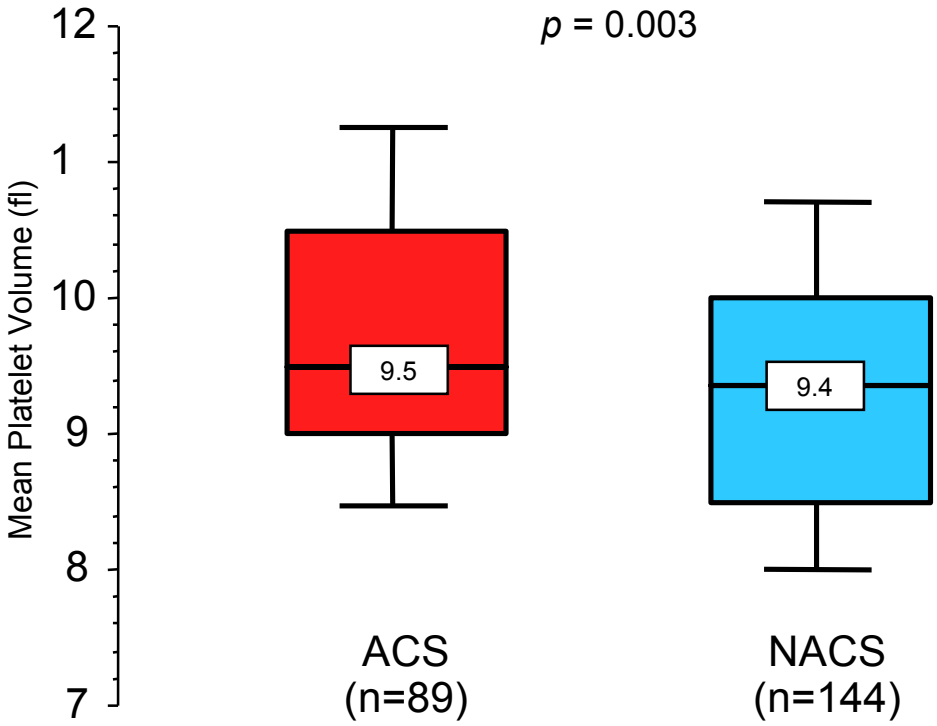

Abbildung 8: mean platelet volume (fl) im Vergleich Akutes Koronarsyndrom (ACS) mit Thoraxschmerz anderer Genese (NACS)

4.3.2. Die Platelet Deviation Width und das Platelet Large Cell Ratio im ACS

In der Gruppe der ACS-Patienten zeigten sich signifikant größere Werte für die Platelet Deviation Width (PDW) (ACS 12,7 ± 2,3 fl vs. NACS 11,9 ± 2,0 fl; p = 0,01), welche die Größenverteilung der Blutplättchen bei 20% des Maximums (Abb. 3) widerspiegelt und einen Indikator für Anisozytose darstellt (Abb. 4).

Ebenfalls das Platelet Large Cell Ratio (P-LCR) als prozentuale Angabe der Plättchen mit einem Volumen größer als 12 fl war bei ACS-Patienten deutlich höher als im Vergleichskollektiv (ACS 25,1 ± 7,2 fl vs. NACS 21,5 ± 7,0 fl; p = 0,0006) (Abb. 5).

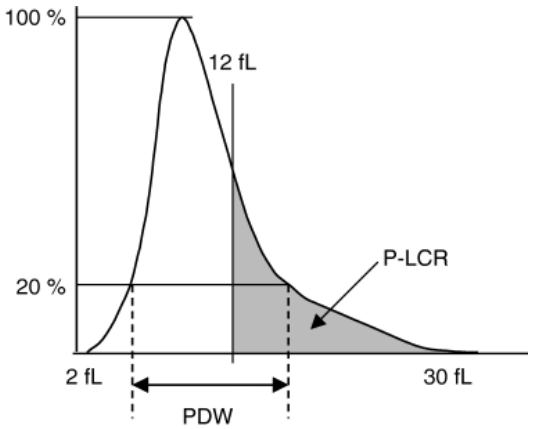

Abbildung 9: Histogramm der Plättchengrößenverteilung; platelet deviation width (PDW): die Verteilung bei 20% der Maximalgröße; Platelet large cell ratio (P-LCR): die prozentuale Menge der Plättchen größer als 12fl (aus Kaito et. al. 2004)[7]

[7] Kaito, K., Otsubo, H., (2004) Platelet size deviation width, platelet large cell ratio, and mean platelet volume have sufficient sensitivity and specificity in the diagnosis of immune thrombocytopenia, British Journal of Haematology, 2004: 128, 698–702

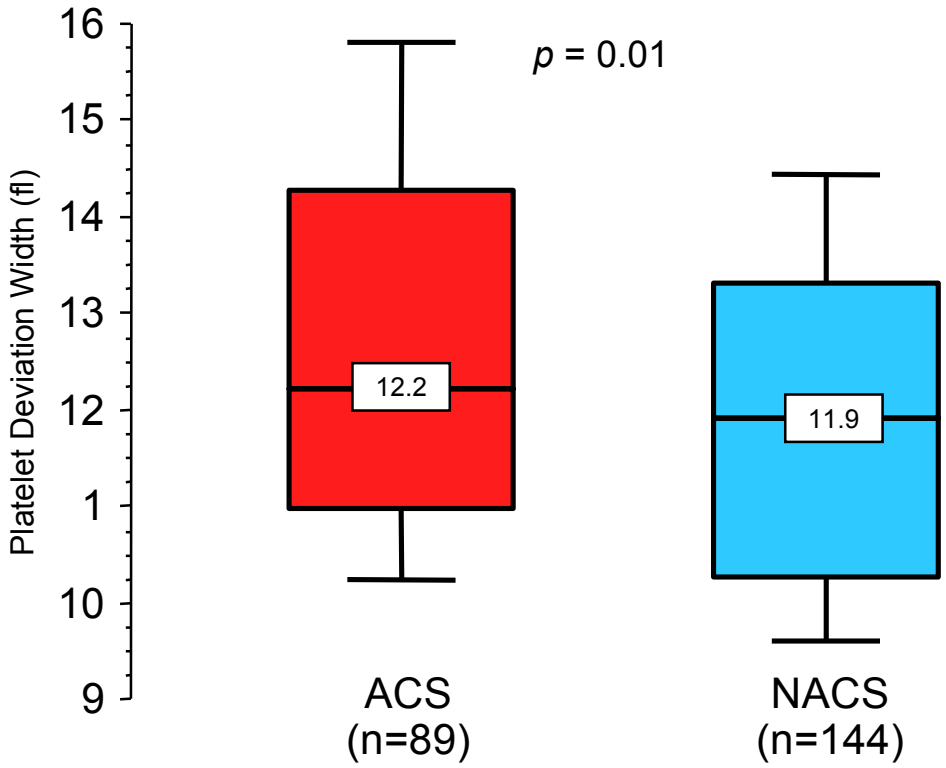

Abbildung 10: platelet deviation width (fl) im Vergleich Akutes Koronarsyndrom (ACS) mit Thoraxschmerz anderer Genese (NACS)

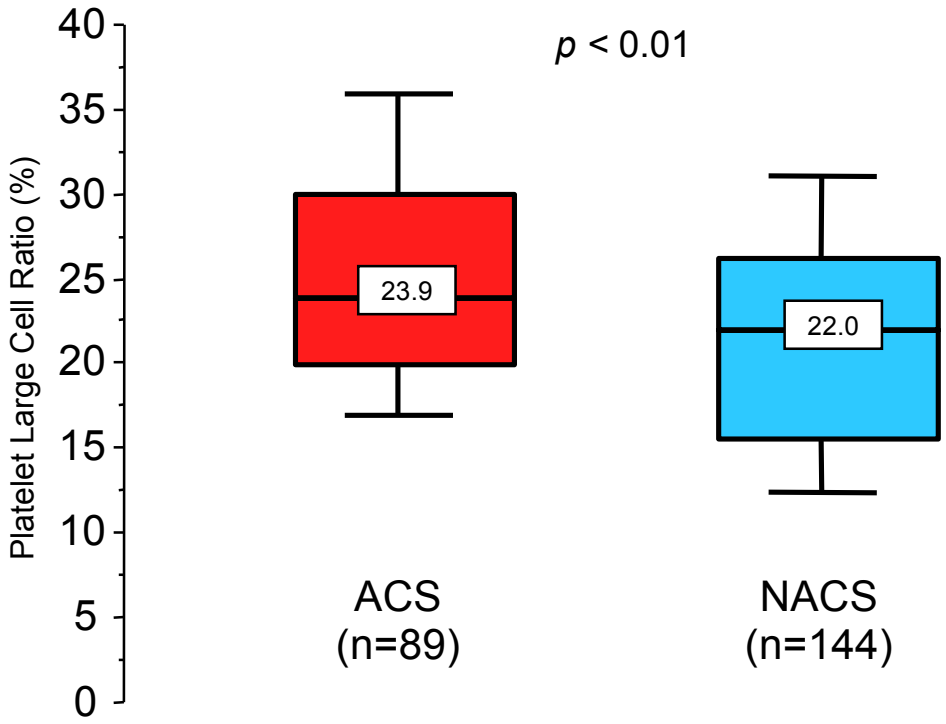

Abbildung 11: Platelet large cell ratio (%) im Vergleich Akutes Koronarsyndrom (ACS) mit Thoraxschmerz anderer Genese (NACS)

4.4. Der Einfluss von Clopidogrel und Heparin auf den PADA-AI und Plättchengrößenindizes im ACS

Patienten, die bei Nachweis eines akuten Koronarsyndromes (ACS) Clopidogrel vor der PADA-Messung erhalten hatten, zeigten signifikant geringere Adhäsionsindizes im Vergleich zu ACS-Patienten ohne Einnahme eines Thienopyridines (ACS mit Clopidogrel: 37,1 ± 24,3% vs. ACS ohne Clopidogrel: 59,2 ± 23,7%) (Abb. 6), die Indizes der Plättchengrösse waren nicht unterschiedlich.

Heparin hingegen hatte keinen nachweisbaren Einfluss auf den PADA-Adhäsionsindex oder die gemessenen Plättchengrößen.

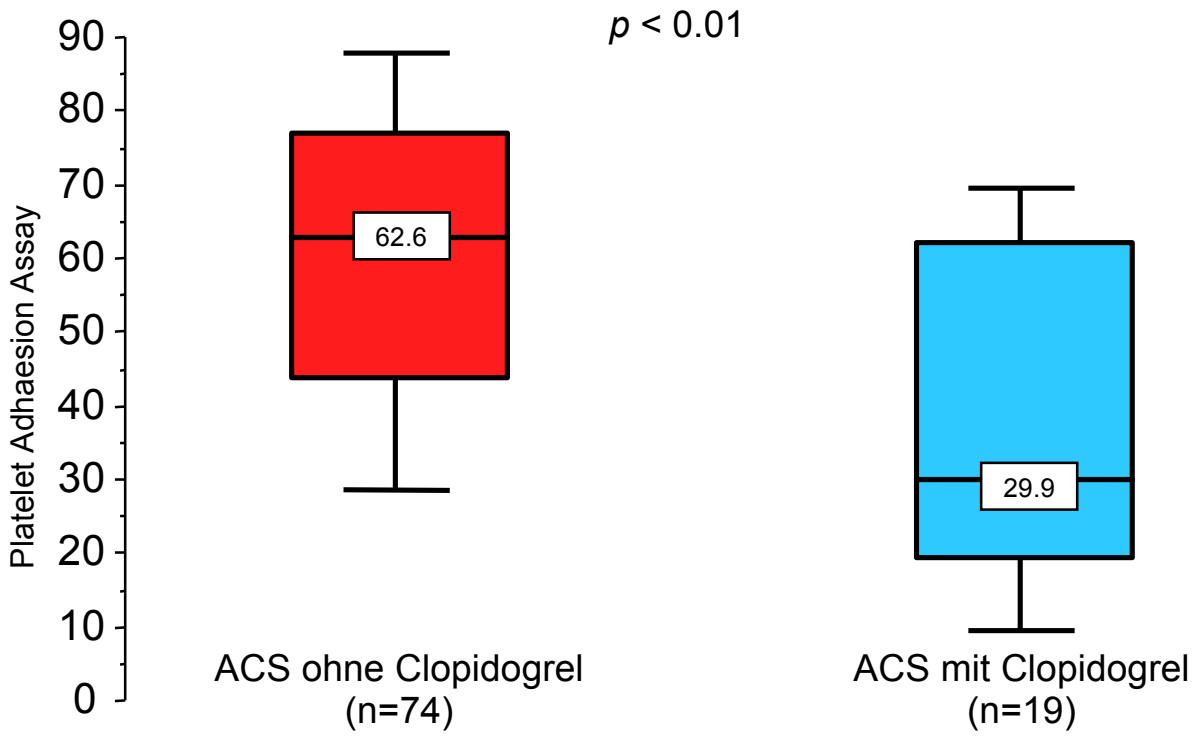

Abbildung 12: PADA Adhäsionsindex (%) im Vergleich Akutes Koronarsyndrom (ACS) ohne Einnahme von Clopidogrel zu ACS mit Clopidogrel

4.5. Der Einfluss kardialer Risikofaktoren auf den PADA-AI und thrombozytäre Größenindizes

In Tabelle 4 werden die untersuchten kardialen Risikofaktoren und die Beeinflussung des Platelet-Adhesion-Index dargestellt. Es wurde untersucht, ob sich Unterschiede im PADA-AI in den jeweiligen Gruppen im Vergleich zu Patienten ohne das entsprechende Merkmal feststellen lassen.

Das mittlere Alter der untersuchten Patienten betrug 67 Jahre. ACS und NACS Patienten waren in der Altersverteilung nicht unterschiedlich. Im Vergleich zwischen Patienten, die zum Zeitpunkt der Messung älter als 67 Jahre waren zu solchen, die jünger waren, konnte kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen festgestellt werden. Jedoch zeigte sich eine Tendenz zu höheren Adhäsionsindizes bei den älteren Patienten.

Im Vergleich der Geschlechter wurde in der ACS-Gruppe ein signifikant höherer Männeranteil gefunden als in der NACS-Gruppe (79% vs. 65%; p=0,03). Ein Unterschied zwischen den PADA-AI Werten im Verglich zwischen Männern und Frauen konnte nicht gemessen werden.

Der mittlere BMI im untersuchten Patientenkollektiv betrug 27,1 kg/m^2. Bei einem verwendeten Trennwert bei 25 kg/m^2 lagen 155 Patienten oberhalb des Trennwertes. Der PADA-AI zeigte keine statistisch signifikanten Unterschiede in einem Vergleich zwischen Patienten unterhalb und oberhalb des cut-off Wertes.

Unter den Patienten befanden sich anamnestisch 46 aktive Raucher, der Anteil der Raucher war in der ACS Gruppe signifikant höher (24% vs. 15%; p=0,08). Verglichen mit den Nichtrauchern konnte kein Unterschied im PADA-AI herausgearbeitet werden.

Es wurden 45 Diabetiker untersucht, verglichen mit den 201 Nicht-Diabetikern konnte kein Unterschied im Adhäsionsindex festgestellt werde.

Die Vergleiche erfolgten sowohl unterteilt nach dem jeweiligen Risikomerkmal, als auch unterteilt innerhalb der finalen Diagnose nach ACS und NACS.

Keiner der untersuchten Risikofaktoren hatte signifikanten Einfluss auf die thrombozytären Grössenindizes, weder in der Gesamtpopulation, noch innerhalb der finalen Diagnosegruppen.

Risikofaktor	(+)	n (+)	n (-)	PADA-AI (+) [%]	PADA-AI (-) [%]	*p*
Alter (Jahre)	≥67	126	120	49,6 ± 24	47 ± 23,5	0,47
Geschlecht	m	172	76	48,9 ± 23,7	47 ± 23,8	0,56
BMI (kg/m^2)	≥25	155	93	49 ± 26,6	47,1 ± 24	0,72
Nikotin	+/-	46	200	50,6 ± 22	47,7 ± 24	0,43
Diabetes mellitus	+/-	45	201	51,4 ± 22	47,6 ± 24	0,27

Tabelle 4 : Einfluss kardialer Risikofaktoren auf den PADA-AI

4.6. Der Einfluss der Schmerzdauer auf den PADA-AI im ACS

Im Mittel erfolgte die Untersuchung der Patienten 4,5 Stunden nach Beginn der thorakalen Schmerzsymptomatik.

ACS-Patienten die sich früher vorstellten, zeigten in der Tendenz höhere Adhäsionsindizes als die später untersuchten, der Unterschied war jedoch ohne statistische Signifikanz (ACS >4,5 h [n = 41]: PADA-AI = 49,6 ± 24,6% vs. ACS ≤ 4,5 h [n = 52]: PADA-AI = 58,7 ± 26,6%; *p* = 0,063). Unter den NACS Patienten konnte kein Unterschied der Adhäsionsindizes in Abhängigkeit von der Schmerzdauer nachgewiesen werden (Abb. 8).

Das Mean Platelet Volume (MPV) zeigte in der Gruppe der später untersuchten Patienten mit akutem Koronarsyndrom signifikant höhere Werte (ACS > 4,5 h [n = 41]: MPV = 10,0 ± 1,1 fl vs. ACS ≤ 4,5 h [n = 48]: MPV = 9,5 ± 0,9 fl; *p* = 0,035).

Die übrigen Plättchengrößenindizes zeigten keine signifikanten Unterschiede in Zusammenhang mit dem Zeitpunkt des Symptombeginns. In der Gruppe der NACS-Patienten waren ebenfalls keine signifikanten Differenzen festzustellen.

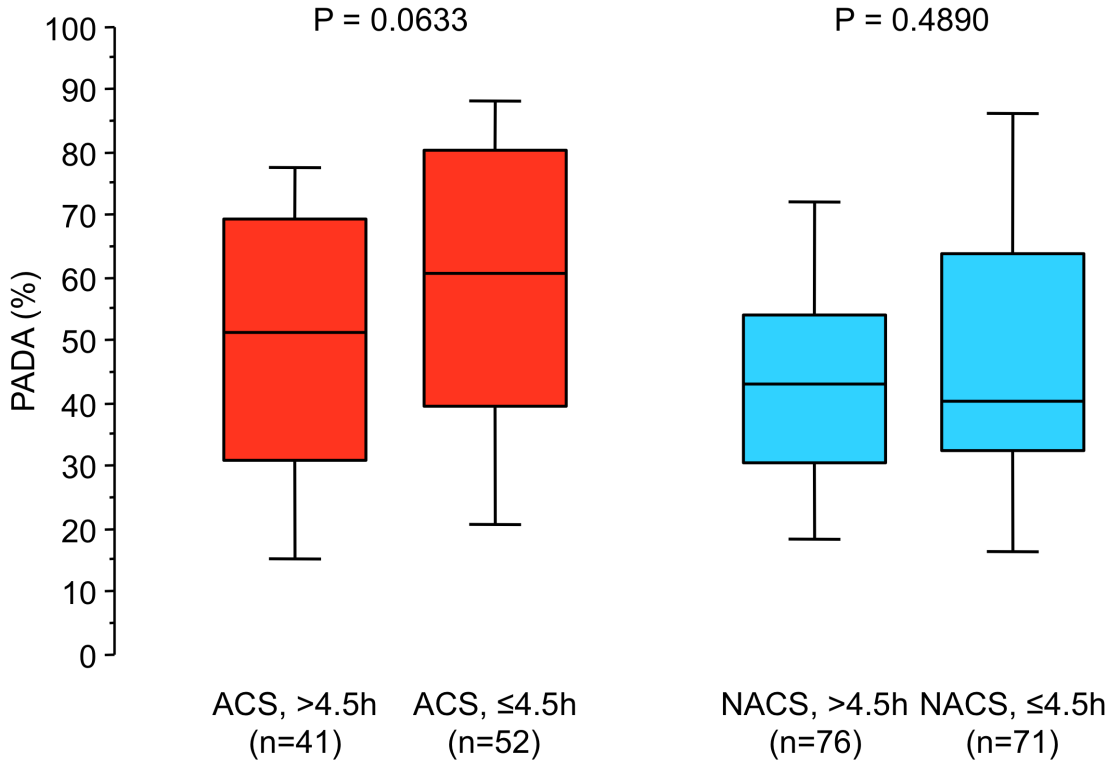

Abbildung 13: Einfluss der Schmerzdauer auf das Platelet Adhesion Assay

5. Diskussion

5.1. Der Einfluss der Thrombozytenzahl auf den PADA-AI

Verschiedene Autoren berichten eine Abhängigkeit der Thrombozytenfunktionsmessung von der Plättchenanzahl. So wird von Sharp und Kollegen eine Zunahme der gemessenen Aggregation in der ADP-stimulierten Impedanzaggregometrie mit ansteigenden Thrombozytenzahlen beschrieben (54).

Seyfert et al. beobachteten keine Beeinflussung der Thrombozytenaggregationsmessung mittels Multiplate, welches sich ebenfalls dem Prinzip der Messung Impedanzzunahme bei steigender Aggregation bedient, durch die Anzahl der Thrombozyten in den verwendeten Vollblutproben innerhalb des normalen Bereiches (55).

Ebenfalls wurden die Ergebnisse, welche mittels Platelet function analyser 100 gemessen wurden, als unabhängig von der Blutplättchenanzahl beschrieben (56).

Auch in den bisher veröffentlichten Daten zur Verwendung des Platelet Adhesion Assay wurde keine Abhängigkeit der Messergebnisse von der Plättchenanzahl innerhalb des untersuchten physiologischen Bereiches festgestellt (48).

Eine Abhängigkeit der gemessenen Adhäsionsindizes von der Thrombozytenzahl in den untersuchten Blutproben konnte in unserer Analyse nicht beobachtet werden (Abbildung 6). Die gemessenen Blutplättchenzahlen innerhalb des hier beschriebenen Untersuchungskollektives bewegten sich zwischen 89 und 479 Zellen pro Nanoliter. Der berechnete Mittelwert lag bei 191 ± 58 /nl. Alle Werte lagen somit innerhalb des physiologischen Normalbereiches.

5.2. Thrombozytenaktivierung und akutes Koronarsyndrom

In der vorliegenden Untersuchung konnte nachgewiesen werden, dass Patienten mit akutem Koronarsyndrom erhöhte thrombozytäre Adhäsionsindizes im Vergleich zu Patienten mit thorakalen Beschwerden anderer Genese aufweisen. Von den untersuchten Patienten mit dem Leitsymptom Thoraxschmerz wiesen die 93 bei denen die Diagnose ACS bestätigt werden konnte in der PADA-Untersuchung signifikant höhere Adhäsionsindizes auf, als die 147 Patienten mit thorakalen Schmerzen anderer Genese (NACS).

Das hier verwendete Platelet Adhesion Assay erscheint somit in der Lage eine erhöhte Thrombozytenadhäsivität im Rahmen eines akuten Koronarsyndroms abzubilden.

Diese Ergebnisse sind kohärent mit den vielfältigen Beschreibungen zu anderen Methoden in der Literatur. So zeigten Patienten, mit akutem ST-Streckenhebungsmyokardinfarkt eine verstärkte Plättchenaggregation im Vergleich zu Patienten mit stabiler Angina pectoris, sowohl in der Messung mittels Platelet Function Analyzer (PFA)-100, wie auch gemessen in der Lichttransmissionsaggregometrie (57). Ebenfalls konnte mittels Lichttransmissionsmessung eine erhöhte spontane Bildung von Mikroaggregaten aus Blutplättchen im peripheren Blut von Patienten mit akutem Myokardinfarkt gemessen werden, die sich im Blut gesunder Kontrollprobanden nicht nachweisen ließen (58). Auch für den VerifyNow Assay konnte gezeigt werden, dass Patienten im Rahmen einer akuten Myokardischämie eine erhöhte Thrombozytenreaktivität im Vergleich zu Patienten mit stabiler KHK aufweisen und sich dieses Phänomen auch nach erfolgter Koronarintervention und unter medikamentöser Therapie nachweisen lässt (59). Die Messung der Stärke von Fibin-Blutplättchen-Aggregaten mittels Thrombelastographie wies ebenfalls eine Erhöhung in Zusammenhang mit stattfindendem Ischämieereignis, im Gegensatz zu stabiler KHK auf (60). Walter et al. zeigten ebenfalls, dass Patienten mit akutem Koronarsyndrom höhere Adhäsionsindices im PADA Test aufweisen, als solche mit stabiler KHK (61).

Die erwähnten Ergebnisse der beschriebenen Verfahren weisen auf die Nachweisbarkeit einer gesteigerten Plättchenaggregation und Adhäsivität im Zuge eines akuten Koronarsyndroms unabhängig von der angewendeten Untersuchungsmethode hin.

Auch Methoden, welche die Thrombozytenaktivierung im Zuge eines Myokardinfarktes nicht anhand der gesteigerten Aggregation oder Adhäsion beurteilen sondern den gesteigerten Aktivierungszustand anhand gesteigerter Plättchensekretion und Zunahme von Oberflächenproteinen gemessen haben zeigen eine gesteigerte Aktivität im Rahmen eines ACS. So konnte gezeigt werden, dass sich auf der Oberfläche der Thrombozyten von Patienten mit einem akuten

Koronarsyndrom eine größere Anzahl von GPIIb/IIIa-Rezeptoren findet, als bei Patienten mit stabiler KHK (62). Dies ist das thrombozytäre Integrin, welches im aktivierten Plättchenzustand vermehrt aus intrazellulären Vesikeln auf die Zelloberfläche transportiert wird und dort primär die Interaktion mit Fibrinogen vermittelt. Dieser Mechanismus ist der im Rahmen der Adhäsion stattfindende Schritt und bildet die Grundlage der Messung des Adhäsionsindex, der mittels dem Platelet Adhesion Assay gemessen wird (48).

Darüber hinaus wiesen Patienten mit akutem Myokardinfarkt eine höhere Rate von Aggregaten aus Monozyten und Thrombozyten auf als das Kontrollkollektiv bestehend aus Patienten mit stabiler KHK, sowie Probanden ohne Nachweis von Koronarstenosen. Der gesteigerte Aktivierungsgrad von Blutplättchen während eines akuten Koronarsyndroms konnte auch anhand des, aus aktivierten Thrombozyten freigesetzten löslichen CD40 Liganden gemessen werden, der unter Anderem der auto- und parakrinen Aktivierung des Fibrinogenrezeptors GPIIb/IIIa dient. Eine erhöhte Plasmakonzentration wiesen Patienten auf, welche an einem akuten Myokardinfarkt litten (63). Vergleichbar konnte wiederholt demonstriert werden, dass das thrombozytäre Adhäsionsmolekül P-Selektin, ausgeschüttet bei Zellaktivierung aus thrombozytären Granula während einer akuten Myokardischämie in erhöhten Konzentrationen im Blut nachgewiesen werden kann (64). Eine Korrelation mit stattfindender myokardialer Zellnekrose und erhöhten P-Selektin Plasmaspiegeln gemessen an Troponin T konnte ebenfalls demonstriert werden (65).

Das Vorliegen einer gesteigerten thrombozytären Aktivierung in Rahmen einer akuten myokardialen Ischämie ist entsprechend auch methodisch anhand des Nachweises gesteigerter Sekretionsleistung und Zell-Zell-Interaktionen nachweisbar.

Die direkte Messung einer gesteigerten Blutplättchenaktivität ist schwierig und störanfällig, da bereits durch die venöse Entnahme und die Interaktion mit Fremdkörperoberflächen eine Aktivitätssteigerung herbeiführt werden kann. Die indirekte Messung, von im Blutplasma nachweisbaren Proteinen, die im Rahmen einer thrombozytären Zellaktivierung freigesetzt werden, kann hier jedoch als Nachweis auf die Plausibilität der oben beschriebenen Ergebnisse verschiedener Plättchenfunktionstests im Zusammenhang mit dem Myokardinfarkt gesehen werden.

Die vorliegenden Ergebnisse zur Plättchenadhäsivität bei Patienten mit akuter koronarer Durchblutungsstörung entsprechen somit bisher veröffentlichten

Untersuchungen. Die bisher in diesem Zusammenhang publizierten Ergebnisse sind unabhängig von der verwendeten Methode und stellen sich in vergleichbarer Weise reproduzierbar dar. Es kann daher angenommen werden, daß, wie in der vorliegenden Untersuchung gezeigt, eine Messung der gesteigerten Plättchenaktivierung im Rahmen eines akuten Koronarsyndroms mittels Platelet-Adhesion-Assay möglich und valide ist.

Bei der verwendeten Methode wird, im Gegensatz zu den meisten klinisch verwendeten Messverfahren zur Bestimmung der Blutplättchenaktivität die Adhäsion, nicht die Aggregation gemessen. Beide Vorgänge setzten jedoch eine vorherige Zellaktivierung voraus und stellen ein Kontinuum in der thrombozytären Blutstillung dar. Daten, welche mittels PFA 100 oder VerifyNow erhoben worden sind (57; 59) sind daher zwar nicht direkt mit den hier vorgelegten Ergebnissen vergleichbar, stellen jedoch denselben Sachverhalt dar. Da sowohl die Adhäsion als auch die Aggregation in nachweisbarem Maße eine vorausgehende Aktivierung der Thrombozyten voraussetzen, kann davon ausgegangen werden, dass die Ergebnisse, welche mit unterschiedlichen Messmethoden erhoben worden sind, letztlich ähnliche Schlüsse zulassen. Gestützt wird die Vermutung im Weiteren durch die Tatsache, daß der hauptsächliche Effekt, welcher mit dem PADA-Test erfasst wird, auf der Aktivität des GP-IIb/IIIa Rezeptors beruht. Hier konnte unabhängig eine vermehrte Oberflächenexpression auf Thrombozyten im Rahmen eines Myokardinfarktes nachgewiesen werden (63, 66). Ebenfalls wurde die, im Vergleich zu gesunden Personen aggravierte Blutplättchenaktivität während eines akuten Koronarsyndroms anhand verschiedener, von aktivierten Thrombozyten sezernierten Proteinen, wie auch dem Nachweis einer vermehrten Oberflächenexpression thrombozytärer Rezeptoren belegt. Die Annahme, daß sich mittels Platelet-Adhesion-Assay eine gesteigerte Thrombozytenaktivierung bei Patienten mit Myokardinfarkt feststellen lässt, lässt sich daher auch auf Ebene der gemessen Rezeptoraktivität belegen.

5.3. Thrombozytäre Größenindizes im akuten Koronarsyndrom

Im Rahmen ihrer Aktivierung machen Blutplättchen einen Gestaltwandel durch. Dieser führt zu einer Vergrößerung der Zelloberfläche. Thrombozyten mit größerem Volumen weisen eine gesteigerte Aktivität, sowie eine größere Anzahl an Oberflächenrezeptoren auf (67; 68, 69). Die Größe eines Thrombozyten beträgt

zwischen vier und zehn Femtoliter, als Durchschnittswert aus einer Messprobe wird das mittlere Plättchenvolumen, oder mean platelet volume (MPV) ebenfalls in Femtolitern angegeben.

In der durchgeführten Untersuchung wiesen die 89 Patienten mit der finalen Diagnose eines akuten Koronarsyndroms signifikant höhere mittlere Plättchenvolumina auf, als die 144 Patienten, bei denen ein akutes Koronarsyndrom als Ursache thorakaler Beschwerden ausgeschlossen werden konnte.

Diese Ergebnisse sprechen ebenfalls für eine erhöhte Plättchenaktivität im Rahmen einer akuten myokardialen Perfusionsstörung und bestätigen die Befunde der erhöhten Plättchen-Adhäsionsindizes, die bei denselben Patienten mittels PADA gemessen wurden.

Ein erhöhtes MPV gilt als etablierter Parameter zum Nachweis einer thrombozytären Aktivierung (70).

Es konnte wiederholt gezeigt werden, dass Patienten mit akutem Herzinfarkt erhöhte mittlere Plättchenvolumina im Vergleich zu Patienten ohne das Vorhandensein einer koronaren Herzerkrankung aufweisen (71). Im Zusammenhang mit einer akuten Minderperfusion zeigten sich die MPV-Werte sowohl erhöht im Vergleich zu gesunden Probanden, wie auch verglichen mit Patienten mit einer stabilen koronaren Herzerkrankung ohne akute Ischämie.

Bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt, bei denen im Vergleich zu Patienten mit thorakalen Beschwerden aus anderer Ursache eine Verkürzung der Blutungszeit gemessen werden konnte, wiesen darüber hinaus die Thrombozyten auch größere Plättchenvolumina auf als in dem Kontrollkollektiv ohne akute Koronarischämie (72).

Hinweisend auf die Assoziation eines erhöhten MPV mit gesteigerter Aktivierung der Blutplättchen konnte gezeigt werden, dass sich auf der Oberfläche der größeren Thrombozyten mehr GP-IIb/IIIa-Rezeptoren nachweisen lassen. Thrombozyten mit höherem MPV weisen eine gesteigerte ADP-induzierte Aggragation auf, als solche mit kleinerem Volumen. Es wird daher angenommen, dass sich nicht primär die Dichte der Integrine auf der Plättchenoberfläche vergrößert, sondern ihre Anzahl im Zuge der Zellaktivierung und der Verlagerung von intrazellulären Granula und darin gespeicherter Rezeptoren an die Zelloberfläche zunimmt (69; 67).

Die Beobachtung einer Korrelation zwischen erhöhtem mittleren Plättchenvolumen und erhöhter Anzahl von GP-IIb/IIIa-Oberflächenrezeptoren konnte auch wiederholt bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom gezeigt werden (66; 69; 73). Hierbei war auch ein signifikanter Unterschied zwischen Patienten mit stabiler Angina pectoris und akutem Koronarsyndrom nachweisbar. Dabei ist der Unterschied in der gemessenen Plättchengröße unabhängig vom Schweregrad der koronaren Herzerkrankung. Auch Patienten mit einer Drei-Gefäß-KHK, jedoch ohne Nachweis einer akuten Ischämie weisen geringere MPV-Werte auf, als solche mit Nicht-ST-Streckenhebungs-Myokardinfarkt (74; 75; 76).

Die in der vorliegenden Arbeit nachgewiesen erhöhten mittleren Plättchenvolumina bei Patienten mit ACS können somit als Nachweis einer Plättchenaktivierung im Rahmen der Myokardischmie interpretiert werden.

Die Platelet Distribution Width (PDW) stellt ein Maß für die Anisozytose innerhalb der untersuchten Thrombozytenprobe dar. Dargestellt wird in diesem Parameter die durchschnittliche Größe der Blutplättchen in einer Probe bei 20% der gemessenen Maximalgröße. Analog zum Mean Platelet Volume stellen auch bei der PDW erhöhte Werte eine gesteigerte Plättchenaktivität dar. Darüber hinaus kann aus erhöhten Werten der Blutplättchengrößenverteilung ein höheres Maß an Anisozytose, also unterschiedlichen Zellvolumina innerhalb der Probe abgelesen werden. Dies spricht für eine zunehmende Ausbildung von Pseudopodien der aktivierten Thrombozyten und daraus resultierende Heterogenität der maschinell vermessenen Zellvolumina (68).

In der vorliegenden Arbeit zeigten sich die gemessenen Werte der Platelet Distribution Width ebenfalls signifikant erhöht bei Patienten mit Nachweis eines akuten Koronarsyndroms im Vergleich zu der Patientengruppe ohne akute myokardiale Durchblutungsstörung. Auch dies spricht für eine erhöhte thrombozytäre Aktivierung bei den untersuchten ACS-Patienten. Khandekar und Kollegen fanden vergleichbare Ergebnisse (77), sowohl MPV als auch PDW zeigten sich lediglich in Zusammenhang mit einem ACS erhöht, die Schwere der zugrundeliegenden KHK zeigte keinen Einfluss auf die ermittelten Werte (78). Analog zu den erhöhten MPV-Werten fanden sich auch für die Platelet-large cell ratio

als Ausdruck des prozentualen Anteils vergrößerter Blutplättchen an der Gesamtprobe bei den ACS Patienten verglichen mit den NACS Patienten, statistisch signifikant höhere Anteile überdurchschnittlich großer Plättchen in den Blutproben.

Vergleichbare Ergebnisse konnten auch in anderen Studien gezeigt werden (77). Bei Patienten mit nachgewiesenem akutem Koronarsyndrom zeigen sich sowohl die mittlere Plättchengröße, als auch der Anteil überdurchschnittlich großer Thrombozyten erhöht. Eine erhöhter Blutplättchenmetabolismus, wie auch eine erhöhte Aktivierung mit nachfolgend gesteigerter Thrombogenität während eines ACS können daher angenommen werden.

Die erhöhte Anzahl übergroßer Plättchen als Aktivitätsmerkmal spricht, wie auch die anderen thrombozytären Größenindizes für die Nachweisbarkeit der gesteigerten Aktivierung der Thrombozyten bei Patienten mit myokardialer Ischämie mittels Platelet-Adhesion-Assay.

5.4. Der Einfluss von Clopidogrel auf das Platelet Adhesion Assay

Zum Zeitpunkt der Studiendurchführung war Clopidogrel das einzige zugelassene Thienopyridin und Bestandteil der nationalen und internationalen Therapieleitlinien des akuten Koronarsyndroms (17).

Der Einfluss von Clopidogrel auf den mittels PADA gemessenen Plättchen-Adhäsionsindex konnte in der vorliegenden Studie gemessen werden. Die 19 ACS-Patienten, die vor der Untersuchung bereits mit Clopidogrel therapiert worden waren zeigten signifikant geringere Werte, als die 74 Patienten, welche vor Verabreichung des Medikamentes untersucht worden waren. Eine Messbarkeit des therapeutischen Effektes von Clopidogrel auf die Thrombozytenadhäsivität bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom erscheint somit möglich zu sein.

Die Nachweisbarkeit eines Effekts von Clopidogrel auf den PADA-AI, sowie eine Dosisabhängigkeit ist in sehr kleinen Patientenzahlen bei Patienten ohne KHK bereits beschrieben worden (49).

Der ex-vivo Nachweis einer Clopidogrel-induzierten Blutplättcheninhibition wurde mit verschiedenen Methoden evaluiert und bereits in groß angelegten Studien, sowie der klinischen Routine eingesetzt.

Es konnte festgestellt werden, dass die Behandlung mit Clopidogrel bei Patienten mit stabiler KHK und belastungsinduzierter Ischämie die ADP-getriggerte thrombozytäre Expression von P-Selektin reduzierten konnte (85).

Im Gegensatz dazu zeigen die bisher veröffentlichten Daten zum Platelet Function Analyser 100, der in der klinischen Nutzung weit verbreitet ist, nur eine eingeschränkte Beurteilbarkeit des therapeutischen Effektes durch ADP-Rezeptorblockade (86).

Die klinisch verwendeten Methoden zur Beurteilung der Wirkung von Clopidogrel auf die thrombozytäre Aggregation bedienen sich sehr unterschiedlicher Mechanismen. Als Referenzmethode zur Messung der Plättchenaktivität gilt die Lichttransmissions-Aggregometrie. Der Einfluss des ADP-Rezeptorantagonisten Clopidogrel, sowie interindividuelle Schwankungen der medikamentös bewirkten Plättchenhemmung wurde mit dieser Methode wiederholt gemessen und beschrieben (79). Sowohl für die Vasodilatator-stimulierendem Phosphoprotein (VASP) (80), als auch für das VerifyNow assay (81, 82), das PlateletWorks assay (84) und die Thrombelastographie (83) ließ sich eine Messbarkeit der Therapie mit Clopidogrel nachweisen. Eine Vergleichbarkeit der jeweils erzielten Messwerte ist nicht gegeben (44; 45).

Die in der vorliegenden Untersuchung nachgewiesene Messbarkeit eines therapeutischen Effektes von Clopidogrel auf die Thrombozytenadhäsivität mittels PADA scheint vor dem Hintergrund der mittels vielfältiger Methoden bewiesener Nachweisbarkeit dieses Effektes schlüssig. Das Platelet-Adhesion-Assay misst primär die Adhäsion von Blutplättchen an immobilisiertes Fibrinogen über den aktivierten throbozytären GP-IIb/IIIa –Rezeptor. Das Ausbleiben einer intrinsischen Aktivierung des Integrins GP-IIb/IIIa über die Blockade des ADP-Rezeptors durch Clopidogrel erklärt die Messbarkeit dieses Effektes durch den PADA-Test.

Vor dem Hintergrund der, in mehreren klinischen Studien nachgewiesenen fehlenden Verbesserung der Prognose durch Therapieumstellung mit Clopidogrel bei Patienten nach Koronarintervention durch Messung der Plättchenhemmung (87; 88), sowie der Einführung neuerer ADP-Rezeptorantagonisten, scheint die Messung der Clopidorelwirkung lediglich zur Kontrolle der Therapieadherenz klinisch einsetzbar.

5.5. Der Einfluss von Clopidogrel auf thrombozytäre Größenindizes

In der durchgeführten Untersuchung konnte keine Veränderung der thrombozytären Größenindizes in der Patientengruppe, die mit Clopidogrel therapiert worden war analog zu dem gemessenen Abfall der PADA-AI Werte gemessen werden.

Die Beobachtung wird auf die Tatsache zurückgeführt, daß durch Clopidogrel lediglich die intrinsische Aktivierung des Fibinogen-Rezeptors GP-IIb/IIIa über eine Verringerung der intrazellulären cAMP-Konzentration bewirkt wird (34). Die Zunahme des mittleren Plättchenvolumens (MPV) spiegelt die generelle Zellaktivierung im Rahmen des akuten Koronarsyndroms wieder (70; 71) und wird durch die Blockade des ADP-Rezeptors nicht beeinflusst. Bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom konnten de Luca et al. ebenfalls nachweisen, dass die mittlere Plättchengröße erhöht war und sich nach dem Beginn einer dualen antithrombozytären Therapie mit ASS und Clopidogrel zwar eine verringerte Aggregation, jedoch ein Fortbestehen des vergrößerten Zellvolumens nachweisen ließ (91). Vergleichbar konnte gezeigt werden, dass die Einnahme von Clopidogrel bei Patienten mit stabiler KHK unter belastungsinduzierter Ischämie zwar zu einer Reduktion der über ADP vermittelten Expression von thrombozytärem P-Selektin führt, jedoch nicht die Plättchenaktivierung durch Ischämie unterbindet (85).

5.6. Der Einfluss von Heparin auf das Platelet Adhesion Assay

In der durchgeführten Untersuchung konnte kein Unterschied des mittels PADA gemessenen Adhäsionsindex zwischen Patienten die zuvor Heparin erhalten hatten und unbehandelten festgestellt werden.

Heparin hat auf unterschiedliche Weisen Einfluss auf die Blutplättchenaggregation. So wurde beschrieben, dass durch die Bindung von Heparin eine höhere Affinität des GP-IIb/IIIa Rezeptors zu Fibrinogen herbeigeführt werden kann (92).

Auch auf andere Tests zur Feststellung der globalen Aggregation konnte kein Einfluss einer vorherigen Heparingabe auf die Messergebnisse nachgewiesen werden (93). Möglicherweise sind die durch Heparin induzierten Veränderungen der Thrombozytenaktivität unterhalb der Messgenauigkeit der verwendeten Methoden und haben daher keinen Einfluss auf die Ergebnisse.

5.7. Der Einfluss kardialer Risikofaktoren auf den PADA-AI.

Ob und inwieweit die thrombozytäre Aktivität mit zunehmendem Alter steigt und inwieweit sich dadurch atherosklerotische Veränderungen in Zusammenhang mit steigendem Alter erklären lassen ist nicht eindeutig belegt. Jedoch scheint eine tendenzielle Aktivitätssteigerung der Blutplättchen im Alter vorzuliegen, welche auch in der vorliegenden Untersuchung nachgewiesen wurde.

In bisher zu der verwendeten Methode veröffentlichten Untersuchungen wurde in einem gesunden Kontrollkollektiv von 100 Menschen mit einem mittleren Alter von 52 Jahren ebenfalls keine signifikante Beeinflussung der Messwerte durch das Probandenalter nachgewiesen, jedoch ein statistisch nicht signifikanter Anstieg des PADA-AI mit zunehmendem Alter (48). Dies entspricht den Ergebnissen der hier vorliegenden Arbeit.

In größeren Kollektiven wurde wiederholt eine zunehmende Blutplättchenaggregation mit steigendem Alter beschrieben (94). Eine vermehrte Aktivität der Thrombozyten bei älteren konnte auch in unterschiedlichen Methoden demonstriert werden (95; 96). Im Gegensatz dazu konnten Kurabayashi et al. zeigen, daß eine verstärkte thrombozytäre Reaktion nur bei älteren Menschen mit bestehender KHK nachzuweisen ist, jedoch nicht in einem gleich alten Kontrollkollektiv ohne vorbestehende Atherosklerose (97).

Männer und Frauen in der durchgeführten Untersuchung zeigten keine statistisch signifikanten Unterschiede in den gemessenen PADA-AI Ergebnissen. Dieser Befund blieb auch nach Aufteilung nach Bestehen eines ACS und NACS konstant.

Nowak et al. haben in ihren veröffentlichten Ergebnissen zur Messbarkeit der Plättchenadhäsivität in jeweils 50 gesunden Probanden beider Geschlechter mittels PADA ebenfalls keine Unterschiede zwischen den Geschlechtern zeigen können (48).

In epidemiologischen Studien konnte bei Frauen eine stärker ausgeprägte Blutplättchenaktivität nachgewiesen werden als bei Männern (94). Frauen weisen im Vergleich zu Männern höhere Thromozytenzahlen auf (98). Ebenso zeigen Frauen in der antithrombozytären Therapie weniger gute Ergebnisse als Männer und profitieren in geringerem Maße von einer Primärprävention mit ASS (99).

Eine kürze Verschlusszeit gemessen am PFA-100 wurde von Haubelt und Kollegen für weibliche Probanden beschrieben (100). Ergebnisse derselben Arbeitsgruppe zu Untersuchungen mit der Impedanz-Aggregometrie mittels Multiplate konnten jedoch keinen Geschlechtereinfluss nachweisen (101).

Die 45 untersuchten Diabetiker zeigten leichtgradig höhere Adhäsionsindizes in der PADA-Messung als die 201 Patienten ohne vorbekannten Diabetes mellitus. Der Unterschied ist jedoch nicht statistisch signifikant ausgefallen. Eine Auftrennung nach Vorhandensein eines akuten Koronarsyndroms zeigte ebenfalls keinen nachweislichen Unterschied diabetischer zu nichtdiabetischen Patienten. Der prozentuale Anteil der Diabetiker war tendenziell höher in der ACS Gruppe, dieser Unterschied erreichte jedoch auch keine statistische Signifikanz.

Feuring et al. zeigten in einem Methodenvergleich zweier Thrombozyten-funktionstests, dass in Patienten mit einem Diabetes mellitus vom Typ II und vorbestehender KHK nur eine der verwendeten Methoden einen Unterschied der Plättchenaggregation zwischen diabetischen und nichtdiabetischen Patienten zeigen konnte (102).

Ein Zusammenhang zwischen Nikotinkonsum und der koronaren Herzerkrankung ist klar belegt. Auch gilt als gesichert, dass Dauer und Menge des Rauchens einen Einfluss auf das Auftreten und den Verlauf atherosklerostisch bedingter Erkrankungen haben.

Es fanden sich in der durchgeführten Untersuchung mehr aktive Raucher in der ACS Gruppe als unter den Patienten mit thorakalen Beschwerden anderer Genese. Ein Unterschied zwischen den PADA-AI Werten in Abhängigkeit der Rauchgewohnheiten konnte nicht festgestellt werden. Auch in der Gruppe der Patienten mit ACS konnte keine relevante Diskrepanz der Adhäsionsindizes zwischen Rauchern und Nichtrauchern festgestellt werden.

Sowohl der Nachweis einer gesteigerten Thrombozytenaktivität unter Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern (103), als auch eine ausgeprägter vorliegende Zell-Zell-Interaktion zwischen Thrombozyten und Monozyten in Abhängigkeit von chronischem Nikotinkonsum sind beschrieben worden (104).

Rauchen zeigte jedoch keinen Einfluss auf die Thrombozytenaggregationsmessung nach Therapie mit Thienopyridinen (105). Von Raold und Kollegen, sowie anderen Arbeitsgruppen konnte eine verstärkte Thrombozytenaktivierung lediglich in kurzem zeitlichem Abstand zum Rauchen gemessen werden, eine bestehende Daueraktivierung in den untersuchten Rauchern wurde im Vergleich zu Nichtrauchern nicht gefunden (106; 107).

Erhöhte Thrombozytenaktivität gemessen am PADA-AI in Verbindung mit einem body mass index oberhalb von 25 kg/m^2 im Untersuchungskollektiv konnten nicht ermittelt werden. Eine mögliche Teilhabe einer Blutplättchenaktivierung in der Entstehung atherosklerostischer Erkrankungen bei Patienten mit erhöhtem Körpergewicht wird diskutiert. So konnte bei adipösen Patienten eine vermehrte Bildung thrombozytärer Mikropartikel als Ausdruck einer bestehenden Zellaktivierung im Vergleich zu normalgewichtigen Kontrollprobanden, sowie ein Rückgang dieser Partikelbildung unter Gewichtsreduktion beobachtet werden (109). Auch zeigten Patienten mit einem erhöhten BMI höhere Werte des mittleren Blutplättchenvolumens als möglicher Ausdruck einer bestehenden Zellaktivierung (110). Diese Beobachtung konnte unter Verwendung der Durchflusszytometrie nicht bestätigt werden. Adipöse Patienten zeigten in der Untersuchung von Samocha-Bonet et al. zwar erhöhte Inflammationsmarker, jedoch konnte keine verstärkte Thrombozytenaktivierung gemessen an einem normalgewichtigen Kontrollkollektiv nachgewiesen werden (111). Auch konnte unter Verwendung verschiedener Testmethoden keine Assoziation zwischen Adipositas und dem Auftreten einer verminderten Reaktion auf antithrombozytäre Substanzen festgestellt werden (112).

In der vorliegenden Untersuchung konnte für keinen der untersuchten Risikofaktoren eine Beeinflussung der Messergebnisse des Platelet Adhesion Assay herausgearbeitet werden. Sowohl in der Auftrennung der Gruppen nach Vorhandensein des jeweiligen Merkmals, wie auch innerhalb der beiden finalen Diagnosegruppen, wurde kein Unterschied für den Adhäsions-Index festgestellt. Vor dem Hintergrund der unterschiedlichen Beobachtungen in der Literatur erscheinen die Beobachtungen plausibel. Ob die Ergebnisse jedoch den reellen Begebenheiten entsprechen, oder methodischer Ursache sind, ist anhand der Daten nicht zu beantworten.

5.8. Der Einfluss der Schmerzdauer auf den PADA-AI und thrombozytäre Größenindizes

In der durchgeführten Studie lag die ermittelte mittlere Symptomdauer vor der Vorstellung in der Notaufnahme bei 4,5 Stunden. Patienten mit der finalen Diagnose eines akuten Koronarsyndroms, die früher untersucht wurden zeigten tendenziell höhere thrombozytäre Adhäsionindizes als diejenigen, die später aufgenommen wurden. Der gemessene Unterschied erreichte keine statistische Signifikanz.

Interessanterweise verhielt sich das mittlere Plättchenvolumen umgekehrt zu den mittels PADA ermittelten Adhäsionsindizes. Hier zeigten ACS-Patienten die schon mehr als 4,5 Stunden vor der Vorstellung in der Klinik unter ihren Symptomen litten signifikant höhere Werte.

5.9. Limitationen

Einschränkend zu der vorliegenden Untersuchung muss gesagt werden, daß nur 248 Patienten eingeschlossen worden sind. Die Diagnose ACS wurde schließlich bei 93 (37,5%) der Patienten gestellt. Ob und inwieweit die hier präsentierten Ergebnisse einer mittels PADA nachweisbaren erhöhten Thrombozytenadhäsivität auch innerhalb größerer Kollektive statistische Signifikanz erreichen würde kann anhand der vorliegenden Daten nicht beurteilt werden. Insbesondere läßt sich auf der Basis der jeweils kleinen Fallzahlen die zur Beurteilung möglicher Einflüsse bekannter kardialer Risikofaktoren auf die Ergebnisse nicht ausschließen. Insbesondere ein höheres Patientenalter und das Vorliegen eines Diabetes mellitus zeigten in der Untersuchung tendenzielle Beeinflussung des Adhäsionsindex und könnten unter Umständen lediglich aufgrund der geringen Fallzahl nicht die statistische Signifikanz erreicht haben. Auch die Gruppe der ACS-Patienten, welche vor der Messung bereits Clopidogrel zur Thrombozyteninhibition erhalten hatten ist mit 19 verhältnismäßig gering, sodaß eine zufällige Feststellung einer Beeinflussung nicht ausgeschlossen werden kann.

Das Platelet Adhesion Assay bedient sich der Messung der Anhaftung aktivierter Thrombozyten an immobilisiertes Fibrinogen. Eine Assoziation erhöhter Fibrinogenplasmaspiegel und der koronaren Herzerkrankung wurde mehrfach beschrieben. So konnten Kannel et al. in Untersuchungen der Framingham Studie

einen Zusammenhang der Höhe des Plasmafibrinogenspiegels und dem Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse feststellen (113). Darüber hinaus wurde auch gezeigt, daß Patienten mit akutem Koronarsyndrom höhere Fibrinogenplasamspiegel aufweisen als solche mit stabiler KHK oder Menschen ohne atherosklerostische Erkrankungen (114; 115).

Es finden sich hingegen in der Literatur widersprüchliche Aussagen zum Einfluss der Fibrinogenkonzentration auf die Blutplättchenaktivität und Aggregation. So beschreiben Schneider et al. eine gesteigerte Degranulation von aktivierten Blutplättchen in vitro durch Steigerung der Fibrinogenkonzentration (116), Koltai et al. fanden hingegen keinen Zusammenhang einer erhöhten Plättchenaggregation nach ADP-Stimulation und der Konzentration des Fibrinogens im Plasma von über 5000 Patienten mit KHK (117).

In der bisher veröffentlichten Untersuchung zum PADA konnten Nowak et al. keine Beeinflussung der ermittelten Adhäsionsindizes durch die Fibrinogenkonzentration im physiologischen Bereich bei gesunden Probanden beobachten (48).

Die aktuelle Untersuchung wendete den PADA-Test in Patienten mit akutem Koronarsyndrom an, ob und in wie weit sich die Fibrinogenkonzentrationen der untersuchten Patienten innerhalb des physiologischen Rahmens bewegten wurde nicht untersucht. Eine Beeinflussung der ermittelten Ergebnisse durch möglicherweise erhöhte Konzentrationen in der Gruppe der ACS-Patienten kann daher nicht ausgeschlossen werden.

Ein weiterer Faktor, welcher eine Veränderung der in vitro gemessenen Thrombozytenaktivität nach sich ziehen kann ist die Art der Blutentnahme. Durch Scherstressaktivierung im Rahmen der Aspiration von Blut ist eine Verfälschung der Messresultate denkbar. Mani et al. haben eine Beeinflussung der ermittelten Plättchenaggregation mittels PFA-100 und optischer Aggregometrie durch die Art des venösen Blutentnahmesystems untersucht. Hierbei konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen Abnahmen mittels Nadel oder Butterlfly Punktionssystemen festgestellt werden (118). Die Blutentnahmen zur Gewinnung von Natriumcitrat-antikoaguliertem Blut in der vorgelegten Studie erfolgten alle mit einem Butterfly Entnahmesystem, eine Veränderung des Aktivitätsstatus der Blutplättchen auf diesem Wege erscheint daher unwahrscheinlich. Eine Beeinflussung der

festgestellten Unterschiede zwischen den untersuchten Patientengruppen wäre bei durchgehender Verwendung des gleichen Punktionssystems nicht zu erwarten.

Auch wird eine Beeinflussung der in vitro Messerresultate der Blutplättchenaktivität und insbesondere der Plättchenvolumina durch das verwendete Antikoagulanz diskutiert. Ein Unterschied zwischen den Messungen des MPV aus Citrat- oder EDTA-antikoguliertem Blut konnte von Dastjerdi et al. nicht beobachtet werden (119). Zur Messung des PADA wird die Verwendung von Natriumcitrat im Verhältnis 1:10 vom Hersteller empfohlen. Ob sich durch Unterschiede in der Füllhöhe der verwendeten Monovetten konzentrationsbedingte Messungenauigkeiten ergeben haben könnten, kann nicht beurteilt werden.

6. Zusammenfassung

Thrombozyten sind beteiligt an der Entstehung, dem Progress und den Komplikationen akuter atherosklerotischer Erkrankungen. Eine stärkere Aktivierung von Thrombozyten ist bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom wiederholt nachgewiesen worden.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es darzustellen, daß das Platelet Adhesion Assay als schneller, und im Vergleich zu den meisten in der klinischen und wissenschaftlichen Praxis verwendeten Methoden einfach durchzuführender Test in der Lage ist, eine Aktivierung der Thrombozyten gemessen an ihrer Adhäsion an immobilisiertes Fibrinogen festzustellen. Von den 248 untersuchten Patienten, welche mit dem Symptom Thoraxschmerz und Verdacht auf ein akutes Koronarsyndrom aufgenommen worden sind, wurde bei 93 die Diagnose elektrokardiographisch, laborchemisch oder koronarangiographisch schließlich gesichert.

Diese Patienten zeigten in der Messung des Adhäsionsindex mittels PADA signifikant höhere Werte als Patienten bei denen ein ACS als Ursache der Beschwerden ausgeschlossen werden konnte. Ebenfalls zeigten sich die thrombozytären Zellvolumina, die als Maß für eine stärkere Aktivität von Thrombozyten gelten, in der Gruppe der ACS Patienten erhöht.

Darüber hinaus konnte der inhibitorische Effekt von Clopidogrel auch im Rahmen eines akuten Koronarsyndroms durch Messung des PADA-AI nachgewiesen werden.

Die mittels PADA erhaltenen Resultate zeigten sich unbeeinflusst durch kardiale Risikofaktoren und waren auch unter Berücksichtigung möglicher Einflussfaktoren valide.

Patienten, die sich kurz nach Beginn ihrer Symptome vorstellten zeigten eine stärker ausgeprägte Thrombozytenadhäsivität.

Ob auf der Basis dieses Verfahrens die antithrombozytäre Therapie gesteuert werden kann, sollte in weiteren Untersuchungen evaluiert werden.

7. Abkürzungsverzeichnis

ACS	Acute Coronary Syndrome
ADP	Adenosintriphosphat
AP	Angina Pectoris
ASS	Acetylsalicylsäure
ATP	Adenosintriphosphat
Ca^{2+}	Calcium
cAMP	zyklisches Adenosin Monophosphat
CD	Cluster of differentiation
CK	Creatinkinase
CK-MB	Creatinkinase myokardspezifisch
COX	Zyklooxygenase
CYP	Cytochrom P (Pigment)
EKG	Elektrokardiogramm
fl	Femtoliter
g	Gramm
GP	Glykoprotein
l	Liter
ICAM	intracellular adhaesion molecule
KHK	Koronare Herzerkrankung
µl	Mikroliter
ml	Milliliter
µm	Mikrometer
mm	Millimeter
mmol	Milli Mol
mV	Millivolt
MPV	Mean Platelet Volume
NSAID	non-steroidal anti-inflammatory drug
NSTEMI	non-ST Segment Elevation Myocardial Infarction
PADA	Platelet Adhesion Assay
PADA-AI	Platelet Adhesion Assay Adhesions Index
PCAM	platelet endothelial cell adhesion molecule
pg	Picogramm
PCI	Percutanous Coronary Intervention
PDW	Platelet Deviation Width
PLCR	Platelet Large Cell Ratio
PLT	Plättchen
PSGL	P-Selektin Glycoprotein Ligand
sec	Sekunde
STEMI	ST Segment Elevation Myocardial Infarction
vWF	von Willebrand Faktor
WHO	World Health Organisation

8. Kongressbeiträge:

P. Peitsmeyer, T. Burkhardt, C. Boes, AK. Holle, S. Gerth, M. Schlueter, T. Meinertz, B. Goldmann, „Indices of platelet adhesiveness and size in patients with acute coronary syndrome“, Posterpräsentation 88064 ESC Kongress Paris 2011

P. Peitsmeyer, T. Burkhardt, C. Boes, AK. Holle, S. Gerth, M. Schlueter, T. Meinertz, B. Goldmann, „Indices der Thrombozytengröße und Adhäsivität bei Patienten mit Akutem Koronarsyndrom (ACS)“ Posterpräsentation PS 204 DGIM Kongress Wiesbaden 2011

9. Literaturverzeichnis

1. Baserga A. (1958). „The hematologic work of Giulio Bizzozero.“ Sci Med Ital. 1958 Jul-Sep;7(1):45-63.

2. Wright JH. (1906). „The origin and nature of the blood plates.“ Boston Med Surg J. 1906;153:643–645.

3. Phillips DR, Jennings LK, et al. (1980). „Identification of membrane proteins mediating the interaction of human platelets.“ J Cell Biol. 1980 Jul;86(1):77-86.

4. Blann AD, Nadar et al. (2003) „The adhesion molecule P-selectin andcardiovascular disease.“ Eur Heart J 2003; 24: 2166 – 2179.

5. Statistisches Bundesamt (2010) „Sterbefälle 2009 nach den 10 häufigsten Todesursachen“ Statistisches Bundesamt 2010

6. Scanlon PJ, Faxon DP, et al. (1999) „ACC/AHA guidelines for coronary angiography. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on practice guidelines (Committee on Coronary Angiography). Developed in collaboration with the Society for Cardiac Angiography and Interventions.“ J Am Coll Cardiol. 1999 May;33(6):1756-824.

7. Lloyd-Jones DM, Larson MG, et al. (1999). „Lifetime risk of developing coronary heart disease.“ Lancet. 1999 Jan 9;353(9147):89-92.

8. Assmann G, Cullen P, et al. (2002). „Simple scoring scheme for calculating the risk of acute coronary events based on the 10-year follow-up of the prospective cardiovascular

Münster (PROCAM) study.“ Circulation. 2002 Jan 22;105(3):310-5.

9. Conroy RM, Pyorala K, et al. (2003). „Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project.“ Eur Heart J 2003;24:987 – 1003.

10. Vander Zwaag R, Lemp GF, et al. (1988). „The effect of cigarette smoking on the pattern of coronary atherosclerosis. A case-control study.“ Chest. 1988 Aug;94(2):290-5.

11. Lewington S, Clarke R, et al. (2002) „Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies.“ Lancet. 2002 Dec 14;360(9349):1903-13.

12. Haffner SM, Lehto S, et al. (1998) „Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction.“

N Engl J Med. 1998 Jul 23;339(4):229-34.

13. Poirier P, Giles TD, et al. (2006). „Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism.“ Circulation. 2006 Feb 14;113(6):898-918.

14. Jousilahti P, Vartiainen E, et al. (1999). „Sex, age, cardiovascular risk factors, and coronary heart disease: a prospective follow-up study of 14 786 middle-aged men and women in Finland.“ Circulation 1999;99:1165–1172.

15. Libby P. (2002). „Inflammation in atherosclerosis.“ Nature. 2002 Dec 19-26;420(6917):868-74.

16. Libby P, Theroux P. (2005) „Pathophysiology of coronary artery disease.“ Circulation. 2005 Jun 28;111(25):3481-8.

17. Bassand JP, Hamm CW, et al. (2007). „Guidelines for the diagnosis and treatment of non-ST-segment elevation acute coronary syndromes.“ Eur Heart J. 2007 Jul;28(13):1598-660.

18. Goldman L, Hashimoto B, et al. (1981). „Comparative reproducibility and validity of systems for assessing cardiovascular functional class: advantages of a new specific activity scale.“ Circulation. 1981 Dec;64(6):1227-34.

19. Hamm CW. (2009). „Kommentar zu den Leitlinien der European Society of Cardiology (ESC) zur Diagnose und Therapie des akuten Koronarsyndroms ohne ST- Strecken-Hebung (NSTE-ACS).“ Kardiologe 2009 DOI 10.1007/s12181-009-0177-2

20. Hamm CW. (2004) Leitlinien: Akutes Koronarsyndrom (ACS) — Teil 2: Akutes

Koronarsyndrom mit ST-Hebung. Z Kardiol 2004b; 93: 324-341.

21. Menown IB, Mackenzie G, et al. (2000). „Optimizing the initial 12-lead electrocardiographic diagnosis of acute myocardial infarction.“ Eur Heart J. 2000 Feb;21(4):275-83.

22. Davies MJ, Thomas AC, et al. (1986). “Intramyocardial platelet aggregation in patients with unstable angina suffering sudden ischemic cardiac death.“ Circulation 1986;73:418–27.

23. Mizuno K, Satomura K, et al. (1992). „Angioscopic evaluation of coronary artery thrombi in acute coronary syndromes. N Engl J Med. 1992:1935–56.

24. Mc Donald L., Edgill M., (1957). „Coagulability of the blood in ischaemic heart disease.“

Lancet 1957, II, 457

25. Milner PC, Martin JF. (1985). „Shortened bleeding time in acute myocardial infarction

and its relation to platelet mass.“ BMJ. 1985;290:1767–1770.

26. Craven LL. (1953). „Experiences with aspirin (Acetylsalicylic acid) in the nonspecific prophylaxis of coronary thrombosis.“ Miss Valley Med J. 1953 Jan;75(1):38-44.

27. Biographie Felix Hoffmann; Bayer AG

28. Collier JG, Flower RJ. (1971). „Effect of aspirin on human seminal prostaglandins.“ Lancet. 1971 Oct 16;2(7729):852-3.

29. Phillips DR, Conley PB, et al. (2005). „Therapeutic approaches in arterial thrombosis.“ J Thromb Haemost. 2005 Aug;3(8):1577-89.

30. Tóth O, Calatzis A, et al. (2006). „Multiple electrode aggregometry: a new device to measure platelet aggregation in whole blood.“ Thromb Haemost. 2006 Dec;96(6):781-8.

31. Antithrombotic Trialists' (ATT) Collaboration et al. (2009). „Aspirin in the primary and secondary prevention of vascular disease: collaborative meta-analysis of individual participant data from randomised trials.“ Lancet. 2009 May 30;373(9678):1849-60.

32. Antithrombotic Trialists' Collaboration. et al. (2002). „Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients.“ BMJ. 2002 Jan 12;324(7329):71-86.

33. Eikelboom JW, Hankey GJ. (2004). „Failure of aspirin to prevent atherothrombosis: potential mechanisms and implications for clinical practice.“ Am J Cardiovasc Drugs. 2004;4(1):57-67.

34. Hankey GJ, Eikelboom JW. (2004). „Aspirin resistance.“ BMJ. 2004 Feb 28;328(7438):477-9.

35. Ray WA, Stein CM, et al. (2002). „COX-2 selective non-steroidal anti-inflammatory drugs and risk of serious coronary heart disease.“ Lancet. 2002 Oct 5;360(9339):1071-3.

36. Mega JL, Close SL, et al. (2009). „Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel.“ N Engl J Med. 2009 Jan 22;360(4):354-62.

37. Gachet C. (2006). „Regulation of platelet functions by P2 receptors.“ Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2006;46:277-300.

38. Savi P, Zachayus JL, et al. (2006). „The active metabolite of Clopidogrel disrupts P2Y12 receptor oligomers and partitions them out of lipid rafts.“ Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Jul 18;103(29):11069-74.

39. Steinhubl SR, Berger PB, et al. (2002). „Early and sustained dual oral antiplatelet therapy following percutaneous coronary intervention: a randomized controlled trial.“ JAMA. 2002 Nov 20;288(19):2411-20.

40. Gori AM, Marcucci R, et al. (2008). „Incidence and clinical impact of dual nonresponsiveness to aspirin and clopidogrel in patients with drug-eluting stents.“ J Am Coll Cardiol. 2008 Aug 26;52(9):734-9.

41. Taubert D, von Beckerath N, et al. (2006). „Impact of P-glycoprotein on clopidogrel absorption.“ Clin Pharmacol Ther. 2006 Nov;80(5):486-501.

42. Simon T, Verstuyft C, et al. (2009). „Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events.“ N Engl J Med. 2009 Jan 22;360(4):363-75.

43. Holmes DR Jr, Dehmer GJ, et al. (2010). „ACCF/AHA clopidogrel clinical alert: approaches to the FDA "boxed warning": a report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on clinical expert consensus documents and the American Heart Association endorsed by the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions and the Society of Thoracic Surgeons.“ J Am Coll Cardiol. 2010 Jul 20;56(4):321-41.

44. Breet NJ, van Werkum JW, et al. (2010). „Comparison of platelet function tests in predicting clinical outcome in patients undergoing coronary stent implantation.“ JAMA 2010; 303: 754–62.

45. Bal Dit Sollier C, et al. (2010). „Differential sensitivity and kinetics of response of different ex vivo tests monitoring functional variability of platelet response to clopidogrel.“ Thromb Haemost. 2010 Sep;104(3):571-81. doi: 10.1160/TH09-11-0803

46. Deklaration von Helsinki 2008

47. Van de Werf F, Bax J, et al. (2008). „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 Dec;29(23):2909-45.

48. Nowak G, Wiesenburg A, et al. (2005). „Platelet adhesion assay--a new quantitative whole blood test to measure platelet function.“ Semin Thromb Hemost. 2005;31(4):470-5.

49. Schumann A, Bucha E, et al. (2005). „Is platelet adhesion assay able to quantify drug-induced platelet dysfunction?“ Semin Thromb Hemost. 2005;31(4):476-81.

50. Lakkis NM, George S, et al. (2001). „Use of ICHOR-platelet works to assess platelet function in patients treated with GP IIb/IIIa inhibitors.“ Catheter Cardiovasc Interv. 2001 Jul;53(3):346-51.

51. Madan M, Berkowitz SD, et al. (2001). „Rapid assessment of glycoprotein IIb/IIIa blockade with the platelet function analyzer (PFA-100) during percutaneous coronary intervention.“ Am Heart J. 2001 Feb;141(2):226-33.

52. Smith JW, Steinhubl SR, et al. (1999). „Rapid platelet-function assay: an automated and quantitative cartridge-based method.“ Circulation. 1999 Feb 9;99(5):620-5.

53. Varon D, Lashevski I, et al. (1998). „Cone and plate(let) analyzer: monitoring glycoprotein IIb/IIIa antagonists and von Willebrand disease replacement therapy by testing platelet deposition under flow conditions.“ Am Heart J. 1998 May;135(5 Pt 2 Su):S187-93.

54. Sharp DS, Beswick AD, et al. (1990). „The association of platelet and red cell count with platelet impedance changes in whole blood and light-scattering changes in platelet rich plasma: evidence from the Caerphilly Collaborative Heart Disease Study.“ Thromb Haemost. 1990 Oct 22;64(2):211-5.

55. Seyfert UT, Haubelt H, et al. (2007). „Variables influencing Multiplate(TM) whole blood impedance platelet aggregometry and turbidimetric platelet aggregation in healthy individuals.“ Platelets. 2007 May;18(3):199-206.

56. Sestito A, Sciahbasi A, et al. (1999). „A simple assay for platelet-mediated hemostasis in flowing whole blood (PFA-100): reproducibility and effects of sex and age.“ Cardiologia. 1999 Jul;44(7):661-5.

57. Campo G, Valgimigli M, et al. (2006). „Value of platelet reactivity in predicting response to treatment and clinical outcome in patients undergoing primary coronary intervention: insights into the STRATEGY Study.“J Am Coll Cardiol. 5;48(11):2178-85.

58. Eto K, Takeshita S, et al. (1998). „Platelet aggregation in acute coronary syndromes: use of a new aggregometer with laser light scattering to assess platelet aggregability.“ Cardiovasc Res. 1998 Oct;40(1):223-9

59. Ahn SG, Lee SH, et al. (2012) “Different prognostic significance of high on-treatment platelet reactivity as assessed by the VerifyNow P2Y12 assay after coronary stenting in

patients with and without acute myocardial infarction." JACC Cardiovasc Interv. 2012 Mar;5(3):259-67.

60. Gurbel PA, Bliden KP, et. al. (2009) „Bivalirudin and clopidogrel with and without eptifibatide for elective stenting: effects on platelet function, thrombelastographic indexes, and their relation to periprocedural infarction results of the CLEAR PLATELETS-2 (Clopidogrel with Eptifibatide to Arrest the Reactivity of Platelets) study." J Am Coll Cardiol. 2009 Feb 24;53(8):648-57.

61. Walter T, Szabo S, et al. (2011) "Investigation of Platelet Adhesiveness in Patients With Coronary Artery Disease and Acute Myocardial Infarction Using the Platelet Adhesion Assay (PADA)" Clin. Lab. 2011; 57:315-320

62. Linden MD, Furman MI, et al. (2007) „Indices of platelet activation and the stability of coronary artery disease." Thromb Haemost. 2007 Apr;5(4):761-5.

63. Heeschen C, Dimmeler S, et al. (2003) "Soluble CD40 ligand in acute coronary syndromes." N Engl J Med. 2003 Mar 20;348(12):1104-11.

64. Blann AD, Nadar et al. (2003) „The adhesion molecule P-selectin and cardiovascular disease." Eur Heart J 2003; 24: 2166 – 2179.

65. Yazici M, Demircan S, et al. (2005) „Relationship Between Myocardial Injury and Soluble P-Selectin in Non-ST Elevation Acute Coronary Syndromes" Circ J 2005; 69: 530 –535

66. Yakushkin VV, Zyuryaev IT, et al. (2011). "Glycoprotein IIb-IIIa content and platelet aggregation in healthy volunteers and patients with acute coronary syndrome." Platelets. 2011;22(4):243-51.

67. Thompson CB, Eaton KA, et al. (1983). „Size dependent platelet subpopulations: relationship of platelet volume to ultrastructure, enzymatic activity, and function." Br J Haematol. 1982 Mar;50(3):509-19.

68. Jagroop IA, Clatworthy I, et al. (2000). „Shape change in human platelets: measurement with a channelyzer and visualisation by electron microscopy." Platelets. 2000 Feb;11(1):28-32.

69. Bancroft AJ, Abel EW, et al. (2000). „Mean platelet volume is a useful parameter: a reproducible routine method using a modified Coulter thrombocytometer." Platelets. 2000 Nov;11(7):379-87.

70. Park Y, Schoene N, et al. (2002). „Mean platelet volume as an indicator of platelet activation: methodological issues." Platelets. 2002 Aug-Sep;13(5-6):301-6.

71. I. Pizzulli, A. Yang, et al. (1998). "Changes in platelet size and count in unstable angina compared to stable angina or non-cardiac chest pain." Eur Heart J, 19 (1) (1998), pp. 80–84

72. Milner PC, Martin JF. (1985). „Shortened bleeding time in acute myocardial infarction and its relation to platelet mass.“ BMJ. 1985;290:1767–1770.

73. Kunicki TJ, Williams SA, et al. (2012) „Mean platelet volume and integrin alleles correlate with levels of integrins α(IIb)β(3) and α(2)β(1) in acute coronary syndrome patients and normal subjects.“ Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2012 Jan;32(1):147-52.

74. Kiliçli-Camur N, Demirtunç R, et al. (2005). „Could mean platelet volume be a predictive marker for acute myocardial infarction?“ Med Sci Monit. 2005 Aug;11(8):CR387-92.

75. Khode V, Sindhur J,et al. (2012). „Mean platelet volume and other platelet volume indices in patients with stable coronary artery disease and acute myocardial infarction: A case control study.“ J Cardiovasc Dis Res. 2012 Oct;3(4):272-5.

76. De Luca G, Santagostino M, et al. (2009). „Mean platelet volume and the extent of coronary artery disease: results from a large prospective study.“ Atherosclerosis. 2009 Sep;206(1):292-7.

77. Khandekar MM, Khurana AS, et al. (2009). „Platelet volume indices in patients with coronary artery disease and acute myocardial infarction: an Indian scenario.“ J Clin Pathol. 2006 Feb;59(2):146-9.

78. De Luca G, Venegoni L, et al.(2010) „Platelet distribution width and the extent of coronary artery disease: results from a large prospective study.“ Platelets. 2010;21(7):508-14. doi: 10.3109/09537104.2010.494743.

79. Gurbel PA, Bliden KP, et al (2005). „Platelet reactivity in patients and recurrent events post-stenting: results of the PREPARE POST-STENTING Study.“ J Am Coll Cardiol. 2005 Nov 15;46(10):1820-6.

80. Schwarz UR, Geiger J, et al. (1999). „Flow cytometry analysis of intracellular VASP phosphorylation for the assessment of activating and inhibitory signal transduction pathways in human platelets – definition and detection of ticlopidine/clopidogrel effects.“ Thromb Haemost 1999; 82: 1145–52.

81. Paniccia R, Antonucci E, et al. (2010). „Comparison of methods for monitoring residual platelet reactivity after clopidogrel by point-of-care tests on whole blood in high-risk patients.“ Thromb Haemost 2010; 104: 287–92.

82. Malinin A, Pokov A, et al. (2006). „Validation of a VerifyNow-P2Y12 cartridge for monitoring platelet inhibition with clopidogrel.“ Methods Find Exp Clin Pharmacol. 2006 Jun;28(5):315-22.

83. Gurbel PA, Bliden KP, et al. (2010). „Adenosine diphosphate-induced platelet-fibrin clot strength: a new thrombelastographic indicator of long-term poststenting ischaemic events.“ Am Heart J 2010; 160: 346–54.

84. van Werkum JW, Kleibeuker M, et al. (2010). „A comparison between Plateletworks assay and light transmittance aggregometry for monitoring the inhibitory effects of clopidogrel.“ Int J Cardiol 2010; 140: 123–6.

85. Perneby C, Wallén NH, et al. (2007) „Effect of clopidogrel treatment on stress-induced platelet activation and myocardial ischemia in aspirin-treated patients with stable coronary artery disease.“ Thromb Haemost. 2007 Dec;98(6):1316-22.

86. Kotzailias N, Elwischger K, et al. (2007). „Clopidogrel-induced platelet inhibition cannot be detected by the platelet function analyser-100 system in stroke patients.“ J Stroke Cerebrovasc Dis 2007; 16: 199–202.

87. Price MJ, Berger PB, et al. (2011). „Standard- vs high-dose clopidogrel based on platelet function testing after percutaneous coronary intervention: the GRAVITAS randomized trial.“ JAMA. 2011 Mar 16;305(11):1097-105. doi: 10.1001/jama.2011.290.

88. Collet JP, Cuisset T, et al. (2012). „Bedside monitoring to adjust antiplatelet therapy for coronary stenting.“ N Engl J Med. 2012 Nov 29;367(22):2100-9. doi: 10.1056/NEJMoa1209979.

89. Michelson AD, Frelinger AL 3rd, et al. (2009). „Pharmacodynamic assessment of platelet inhibition by prasugrel vs. clopidogrel in the TRITON-TIMI 38 trial.“ Eur Heart J. 2009 Jul;30(14):1753-63. doi: 10.1093/eurheartj/ehp159.

90. Storey RF, Angiolillo DJ, et al. (2010). „Inhibitory effects of ticagrelor compared with clopidogrel on platelet function in patients with acute coronary syndromes: the PLATO (PLATelet inhibition and patient Outcomes) PLATELET substudy.“ J Am Coll Cardiol. 2010 Oct 26;56(18):1456-62. doi: 10.1016/j.jacc.2010.03.100.

91. De Luca G, Secco GG, et al. (2012). „Short-term effects of aspirin and clopidogrel on mean platelet volume among patients with acute coronary syndromes. A single-center prospective study.“ Blood Coagul Fibrinolysis. 2012 Dec;23(8):756-9.

92. Cunji Gao, Brian Boylan, et al. (2011). „Heparin promotes platelet responsiveness by potentiating αIIbβ3-mediated outside-in signaling.“ Blood. 2011 May 5; 117(18): 4946–4952.

93. Kottke-Marchant K, Powers JB, et al. (1999). „The effect of antiplatelet drugs, heparin, and preanalytical variables on platelet function detected by the platelet function analyzer (PFA-100).“ Clin Appl Thromb Hemost. 1999 Apr;5(2):122-30.

94. Meade TW, Vickers MV, et al. (1985). „Epidemiological characteristics of platelet aggregability.“ Br Med J (Clin Res Ed). 1985 Feb 9;290(6466):428-32.

95. Sestito A, Sciahbasi A, et al. (1999). „A simple assay for platelet-mediated hemostasis in flowing whole blood (PFA-100): reproducibility and effects of sex and age.“ Cardiologia. 1999 Jul;44(7):661-5.

96. Gleerup G, Winther K. (1988). „The effect of ageing on human platelet sensitivity to serotonin.“ Eur J Clin Invest. 1988 Oct;18(5):504-6.

97. Kurabayashi H, Kubota K, et al. (2010). „Platelet activation is caused not by aging but by atherosclerosis.“ Arch Gerontol Geriatr. 2010 Sep-Oct;51(2):205-8.

98. Biino G, Santimone I, et al. (2013). „Age- and sex-related variations in platelet count in Italy: a proposal of reference ranges based on 40987 subjects' data.“ PLoS One. 2013;8(1):e54289

99. Berger JS, Roncaglioni MC, et al. (2006). „Aspirin for the primary prevention of cardiovascular events in women and men: a sex-specific meta-analysis of randomized controlled trials.“ JAMA. 2006;295:306–13

100. Haubelt H, Anders C, et al. (2005). „Variables influencing Platelet Function Analyzer-100 closure times in healthy individuals.“ Br J Haematol. 2005 Sep;130(5):759-67.

101. Seyfert UT, Haubelt H, et al. (2007). „Variables influencing Multiplate(TM) whole blood impedance platelet aggregometry and turbidimetric platelet aggregation in healthy individuals.“ Platelets. 2007 May;18(3):199-206.

102. Feuring M, Wehling M, et al. (2010). „Coagulation status in coronary artery disease patients with type II diabetes mellitus compared with non-diabetic coronary artery disease patients using the PFA-100® and ROTEM®.“ Platelets. 2010;21(8):616-22.

103. Fusegawa Y, Handa S. et al. (2000). „Platelet aggregation induced by ADP or epinephrine is enhanced in habitual smokers.“ Thromb Res. 2000 Mar 1;97(5):287-95.

104. Harding SA, Sarma J, et al. (2004). „Upregulation of the CD40/CD40 ligand dyad and platelet-monocyte aggregation in cigarette smokers.“ Circulation. 2004 Apr 27;109(16):1926-9.

105. Hochholzer W, Trenk D, et al. (2011). „Impact of smoking on antiplatelet effect of clopidogrel and prasugrel after loading dose and on maintenance therapy.“ Am Heart J. 2011 Sep;162(3):518-26.e5.

106. Roald HE, Lyberg T, et al. (1995). „Collagen-induced thrombus formation in flowing nonanticoagulated human blood from habitual smokers and nonsmoking patients with severe peripheral atherosclerotic disease.“ Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1995 Jan;15(1):128-32.

107. Sharp DS, Benowitz NL, et al. (1995). „Cigarette smoking sensitizes and desensitizes impedance-measured ADP-induced platelet aggregation in whole blood.“ Thromb Haemost. 1995 Aug;74(2):730-5.

108. Berrington de Gonzalez A, Hartge P, et al. (2010). „Body-mass index and mortality among 1.46 million white adults.“ N Engl J Med. 2010 Dec 2;363(23):2211-9. doi: 10.1056/NEJMoa1000367.

109. Murakami T, Horigome H, et al. (2007). „Impact of weight reduction on production of platelet-derived microparticles and fibrinolytic parameters in obesity.“ Thromb Res. 2007;119(1):45-53. Epub 2006 Feb 15.

110. Coban E, Ozdogan M, et al. (2005). „The mean platelet volume in patients with obesity.“ Int J Clin Pract. 2005 Aug;59(8):981-2.

111. Samocha-Bonet D, Justo D, et al. (2008). „Platelet counts and platelet activation markers in obese subjects.“ Mediators Inflamm. 2008;2008:834153.

112. Gaglia MA Jr, Torguson R, et al. (2011). „Relation of body mass index to on-treatment (clopidogrel + aspirin) platelet reactivity.“ Am J Cardiol. 2011 Sep 15;108(6):766-71.

113. Kannel WB, Wolf PA, et al. (1987). „Fibrinogen and risk of cardiovascular disease. The Framingham Study.“ JAMA. 1987 Sep 4;258(9):1183-6.

114. Abrignani MG, Novo G, et al. (1999). “Increased plasma levels of fibrinogen in acute and chronic ischemic coronary syndromes.” Cardiologia. 1999 Dec;44(12):1047-52.

115. Gil M, Zarebiński M, et al. (2002). “Plasma fibrinogen and troponin I in acute coronary syndrome and stable angina.” Int J Cardiol. 2002 Apr;83(1):43-6.

116. Schneider DJ, Taatjes DJ, et al. (1999). “Increased reactivity of platelets induced by fibrinogen independent of its binding to the IIb-IIIa surface glycoprotein: a potential contributor to cardiovascular risk.” J Am Coll Cardiol. 1999 Jan;33(1):261-6.

117. Koltai K, Feher G, et al. (2008). „Relation of platelet aggregation and fibrinogen levels to advancing age in aspirin- and thienopyridine-treated patients.“ Clin Hemorheol Microcirc. 2008;40(4):295-302.

118. Mani H, Kirchmayr K, et al. (2004). „Influence of blood collection techniques on platelet function.“ Platelets. 2004 Aug;15(5):315-8.

119. Dastjerdi MS, Emami T, et al. (2006) „Mean platelet volume measurement, EDTA or citrate?“ Hematology. 2006 Oct;11(5):317-9.

10. Lebenslauf

26.06.1981	geboren in Bünde
1987 – 1991	Grundschule
1991 – 2000	Gymnasium in Bünde; Abitur
2002 – 2008	Medizinstudium an der Universität Hamburg
01.2009 – jetzt	Assistenzarzt Klinik für allgemeine und interventionelle Kardiologie am Universitären Herzzentrum Hamburg

11. Danksagung

Prof. Dr. Karsten Sydow für die Möglichkeit diese Dissertation machen zu können und darüber hinaus die Begleitung vom Berufsanfang bis heute.

Dr. Britta Goldmann, die das Wort Doktor-Mutter wirklich mit Inhalt gefüllt hat und diese Rolle mustergültig über die eigentlichen Kernaufgaben hinaus dargestellt hat und ohne die ich nie diesen Weg eingeschlagen hätte.

Lena, die mich immer in allen meinen Phasen bestärkt und unterstützt hat wo immer sie konnte.

Meinen Eltern, ohne die ich weder hier wäre, noch bis hier her gekommen wäre.

Dr. Michael Schlüter, der nie müde und ungeduldig geworden ist mich durch die Untiefen der Statistik zu führen und in mir wissenschaftliches Denken und Interesse gesät hat.

Sabine Gerth, die als Rückrad und gute Seele dieser Arbeitsgruppe die Entstehung erst möglich macht hat.

PD Dr. Volker Rodolph, der maßgeblich die Konzeption und Realisation dieses Projektes begleitet hat.

Meinen Mitstreitern / Vorgängern Dr. Till Burkhardt und Dr. Constantin Bös, die durch ihre Arbeiten die Grundlage für die meinige geschaffen haben.

Meinen Freunden und Kollegen im Universitären Herzzentrum Hamburg die mich oft, immer wieder und immer noch in beruflichen und privaten Belangen unterstützen.

Danke.

12. Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.
Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: .....