

**Aus dem Herzzentrum, Medizinische Klinik III
des Zentrums für Innere Medizin des
Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf
Direktor: Prof. Dr. med. Thomas Meinertz**

**Über den Einfluss einer Glykoprotein IIb/IIIa-
Rezeptorblockade auf die flussabhängige Dilatation der
Arteria brachialis bei perkutaner Koronarintervention**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
dem Fachbereich der Universität Hamburg

vorgelegt von

Mir Abolfazl Ostad

aus Teheran/ Iran

Hamburg 2004

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	5
1.1. Bedeutung der Endotheldysfunktion bei der Atherosklerose	6
1.2. Interaktionen zwischen Thrombozyten und Endothel	6
1.3. Fragestellung	7
2. Material und Methoden	9
2.1. Studienprotokoll	9
2.1.1. Studienpopulation	9
2.1.2. Einschlusskriterien	9
2.1.3. Ausschlusskriterien	9
2.1.4. Studienablauf	10
2.1.5. Abschätzung des Stichprobenumfangs	11
2.2. Studienmedikation	12
2.2.1. Pharmakologische Eigenschaften	12
2.3. Untersuchung der Endothelfunktion	13
2.3.1. Flussabhängige Dilatation	13
2.3.1.1. Prinzip der flussabhängigen Dilatation	13
2.3.1.2. Untersuchungsablauf	13
2.3.2. Endothelunabhängige Dilatation	15
2.3.3. Auswertung	16
2.3.4. Reproduzierbarkeit und Wiederholbarkeit	17
2.3.4.1. Intraobservervariabilität	18
2.3.4.2. Variabilität zwischen zwei Untersuchungen	18
2.4. Untersuchung des Einfluss einer diagnostischen Koronarangiographie auf die flussabhängige Dilatation	18
2.5. Blutuntersuchungen	19
2.5.1. Plättchenadhäsionsassay (PADA)	19
2.5.1.1. Hintergrund des PADA	19
2.5.1.2. Prinzip der Methode	19
2.5.1.3. Durchführung	20

2.5.1.4.	Charakterisierung des PADA bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit	22
2.5.1.5.	Einfluss verschiedener Pharmaka auf den PADA	23
2.5.2.	Laborparameter zur Charakterisierung der Patientenpopulation.....	25
2.6.	Klinische Untersuchung	26
2.7.	Statistische Analyse	26
3.	Ergebnisse -----	27
3.1.	Studienpopulation.....	27
3.2.	Endothelabhängige Dilatation.....	30
3.2.1.	Einfluss einer Koronarintervention und einer Tirofibanbolusinjektion auf die flussabhängige Dilatation der Arteria brachialis.....	30
3.2.2.	Einfluss einer diagnostischen Koronarangiographie auf die flussabhängige Dilatation der Arteria brachialis.....	33
3.3.	Endothelunabhängige Dilatation.....	35
3.4.	Ergebnisse des PADA	35
4.	Diskussion-----	37
4.1.	Einfluss einer perkutanen Koronarintervention auf die flussabhängige Dilatation der Arteria brachialis.....	37
4.2.	Einfluss einer gpIIb/IIIa-Rezeptorblockade auf die flussabhängige Dilatation der Arteria brachialis.....	39
4.3.	Pharmakodynamisches Monitoring durch den PADA	43
4.4.	Limitationen der Studie.....	44
4.5.	Schlussfolgerung.....	44
5.	Zusammenfassung -----	45
6.	Verzeichnis der Abkürzungen -----	47
7.	Literatur -----	49

8. Danksagung	55
9. Erklärung	56
10. Lebenslauf	57

1. Einleitung

Die Atherosklerose mit ihren Folgekrankheiten der koronaren Herzkrankheit, der zerebrovaskulären Insuffizienz und der peripheren Gefäßerkrankung ist die häufigste Todesursache der westlichen Welt. Unter diesen Todesursachen hat das akute Koronarsyndrom den größten Anteil. Zahlreiche Studien haben belegt, dass die Aktivierung von Thrombozyten mit gesteigerter Aggregation und Adhäsion eine wichtige Rolle bei der Pathogenese des akuten Koronarsyndroms spielen. Bei der Aggregation und Adhäsion der Thrombozyten bilden aktivierte Glykoprotein (gp) IIb/IIIa-Rezeptoren die gemeinsame Endstrecke verschiedener Thrombozytenaktivierungswege. Klinische Studien haben gezeigt, dass der Einsatz von gpIIb/IIIa-Rezeptorantagonisten die Prognose von Patienten mit einem akuten Koronarsyndrom verbessert (Boersma et al. 1999, The CAPTURE Investigators 1997, The EPILOG Investigators 1997, The EPISTENT Investigators 1998, The ESPRIT Investigators 2000). Außerdem verringert der periinterventionelle Einsatz von gpIIb/IIIa-Rezeptorantagonisten die Häufigkeit ischämischer Komplikationen bei der perkutanen Koronarintervention (PTCA) (Karvouni et al. 2003, The EPILOG Investigators 1997, The EPISTENT Investigators 1998, The ESPRIT Investigators 2000). Demzufolge empfehlen die aktuellen Richtlinien der American Heart Association und des American College of Cardiology den Einsatz eines gpIIb/IIIa-Rezeptorantagonisten als zusätzliche Therapie bei der perkutanen Koronarintervention bei Patienten mit hohem Risiko oder beim akuten Koronarsyndrom (Smith et al. 2001). Neben einer Thrombozytenaktivierung ist die Erkrankung des Gefäßendothels für die Pathogenese der Atherosklerose von besonderer Bedeutung.

1.1. Bedeutung der Endotheldysfunktion bei der Atherosklerose

Das Gefäßendothel spielt eine wichtige Rolle für den Erhalt der vaskulären Integrität (Harrison 1994). Endothelzellen produzieren eine Reihe vasoprotektiver Mediatoren mit potenten antiatherosklerotischen Wirkungen. Das von der endothelialen NO-Synthase gebildete Stickstoffmonoxid (NO) wirkt durch die Regulation des Gefäßtonus, die Hemmung der Expression von Adhäsionsmolekülen und die Hemmung der Proliferation und Migration glatter Gefäßmuskelzellen in besonderer Weise antiatherosklerotisch. Außerdem führt NO zu einer Hemmung der Thrombozytenaggregation und –adhäsion und wirkt damit den Folgen einer gesteigerten Thrombozytenaktivierung entgegen. Die bekannten koronaren Risikofaktoren arterielle Hypertonie (Germano et al. 2004), Hypercholesterinämie (Warnholtz et al. 1999), Diabetes mellitus (Hink et al. 2001), chronischer Nikotinabusus (Heitzer et al. 1996) führen zu einer Steigerung der Produktion reaktiver Sauerstoffspezies wie z.B. der Superoxidanionen, die durch die Bindung an NO zu einer Verminderung der NO-Bioverfügbarkeit führen. Die reduzierte NO-Bioverfügbarkeit führt zu einer Endotheldysfunktion mit der Konsequenz einer gesteigerten Empfindlichkeit für Vasokonstriktoren, Zunahme der Thrombozytenaktivierung, Steigerung der Proliferation glatter Gefäßmuskelzellen und letztlich Fortschreiten atherosklerotischer Gefäßwandveränderungen.

1.2. Interaktionen zwischen Thrombozyten und Endothel

Während zahlreiche Studien den Einfluss der Endotheldysfunktion auf die Plättchenfunktion gezeigt haben, gibt es nur wenige Daten, die eine ungünstige Wirkung aktivierter Plättchen auf die Endothelfunktion belegen. Kaul et al. (1993) konnten zeigen, dass die intraluminale Aktivierung von Thrombozyten gesunder menschlicher Probanden in der

Arteria carotis normaler Kaninchen zu einer Vasodilatation führt, während diese Thrombozyten in der Arteria carotis hypercholesterinämischer Kaninchen zu einer Vasokonstriktion führten. In aktivierten Thrombozyten diabetischer Patienten ist gezeigt worden, dass sie eine Vasokonstriktion verursachen. Werden Arterien gesunder Probanden mit dem NO-Synthaseinhibitor N^G-nitro-L-Arginin vorbehandelt, verursachen aktivierte Thrombozyten in ähnlichem Ausmaß eine Vasokonstriktion wie bei Diabetikern ohne Vorbehandlung mit einem NOS-Inhibitor (Oskarsson et al. 1997). Diese Befunde lassen die Schlussfolgerung zu, dass aktivierte Thrombozyten eine Wirkung auf die Regulation des Gefäßtonus haben, der entscheidend von dem Zustand der NO-Synthase abhängt. Da die gpIIb/IIIa-Rezeptoren die gemeinsame Endstrecke der Thrombozytenaktivierung bilden, ist es interessant zu prüfen, ob der Einfluss aktivierter Thrombozyten auf das Gefäßendothel ein gpIIb/IIIa-Rezeptorvermittelter Prozess ist. In der Tat konnten Aymong et al. (2002) kürzlich zeigen, dass der gpIIb/IIIa-Rezeptorantagonist Abciximab die Endothelfunktion der koronaren Mikrozirkulation nach koronarer Stentimplantation verbessern konnte. Heitzer et al. (2003) haben bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit gezeigt, dass die gpIIb/IIIa-Rezeptorantagonisten Tirofiban und Eptifibatide die Endotheldysfunktion der Mikrozirkulation des Unterarms verbessern und dass dieses mit einer Verbesserung der NO-Bioverfügbarkeit einhergeht.

1.3. Fragestellung

Da die koronare Herzkrankheit und insbesondere das akute Koronarsyndrom zum großen Teil eine Erkrankung der epikardialen Leitungsarterien ist, ist es von besonderer Bedeutung ob diese Befunde des Einflusses einer gpIIb/IIIa Rezeptorblockade auf die Endothelfunktion auch für die Leitungsarterien gelten. Es ist bekannt, dass eine perkutane Koronarintervention zu einer akuten Thrombozytenaktivierung führt, was möglicherweise zu einer akuten Verschlechterung der Endothelfunktion führen kann. Die Befunde von Aymong geben hierfür einen Hinweis,

unklar ist jedoch bisher ob die Verschlechterung der Endothelfunktion nur das dilatierte Koronargefäß betrifft oder ob es sich um einen systemischen Effekt handelt.

Diese Arbeit sollte daher zwei Hypothesen untersuchen:

1. Eine perkutane Koronarintervention führt zu einer Verschlechterung der Endothelfunktion peripherer Leitungsarterien (Arteria brachialis).
2. Die akute Gabe eines gpIIb/IIIa-Rezeptorantagonisten während einer perkutanen Koronarintervention verbessert die Endothelfunktion der Arteria brachialis.

Um diese Hypothesen zu prüfen, wurde die Endothelfunktion der Arteria brachialis bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit vor und nach Durchführung einer perkutanen Koronarintervention mittels Ultraschall gemessen. Die sonographische Messung der flussabhängigen Dilatation ist eine etablierte Methode zur Evaluation der Endothelfunktion von Leitungsarterien (Corretti et al. 2002). Um die Bedeutung des gpIIb/IIIa-Rezeptors auf die Interaktion zwischen aktivierten Thrombozyten und der Endothelfunktion zu untersuchen, wurde ein Teil der Patienten mit dem gpIIb/IIIa-Rezeptorantagonisten Tirofiban behandelt. Die Wirkung der akuten gpIIb/IIIa-Rezeptorblockade wurde durch den Einsatz eines neuartigen in-vitro Plättchenadhäsionsassay (Platelet Adhesion Assay PADA) überprüft.

2. Material und Methoden

2.1. Studienprotokoll

2.1.1. Studienpopulation

Im Rahmen einer monozentrischen, kontrollierten Studie wurden Patienten mit einer angiographisch dokumentierten koronaren Herzkrankheit mit Indikation zur perkutanen Koronarintervention untersucht.

2.1.2. Einschlusskriterien

Als Einschlusskriterien wurden ein Patientenalter > 18 Jahre, das Vorliegen einer hämodynamisch signifikanten Koronararterienstenose mit stabiler Angina pectoris mit Indikation für eine perkutane Koronarintervention festgelegt.

2.1.3. Ausschlusskriterien

Als Ausschlusskriterien wurde das Vorliegen eines akuten Koronarsyndroms, einer dekompensierten Herzinsuffizienz, einer Behandlung mit einem gpIIb/IIIa Rezeptorantagonisten innerhalb der letzten 14 Tage, dem Vorliegen einer hämorrhagischen Diathese, einer Thrombozytopenie < 100000/ μ l, eines Schlaganfalls innerhalb der letzten 6 Monate, einer manifesten Hyper- oder Hypothyreose oder einer Niereninsuffizienz mit einem Plasmakreatinin >2.0 mg/dl festgelegt.

2.1.4. Studienablauf

Die Patienten, die in der Medizinischen Klinik III des Zentrums für Innere Medizin des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf zur elektiven perkutanen Koronarintervention stationär aufgenommen wurden, wurden auf das Vorliegen der Ein- und Nichtvorliegen der Ausschlusskriterien überprüft. Bei Patienten, die das Vorliegen der Ein- und das Nichtvorliegen der Ausschlusskriterien für die Durchführung der Studie erfüllt haben, wurde innerhalb von 2 Stunden vor Durchführung der geplanten perkutanen Koronarintervention die flussabhängige Dilatation der Arteria brachialis und bei einem Teil der Patienten auch die nitroglyzerin-abhängige Dilatation der Arteria brachialis gemessen. Ein von der Studie unabhängiger Herzkatheterarzt hat nach angiographischen Kriterien (Dissektion des Koronargefäßes, Bifurkationsstenose, Stenose des Hauptstammes oder der LAD oder proximalen CFX, vorhandener Thrombus in den Koronargefäßen, verbliebene Stenose nach Ballondilatation) die Indikation zur Gabe einer Tirofibanbolusinjektion (10 µg/ kg Körpergewicht) gestellt. Anschließend wurden die Patienten bei Tirofibanangabe der Tirofiban Behandlungsgruppe bzw. bei Nichtgabe von Tirofiban der Kontrollgruppe zugeteilt. Innerhalb von 30 Minuten nach Abschluss der perkutanen Koronarintervention wurden die Messungen der flussabhängigen Dilatation der Arteria brachialis und bei einem Teil der Patienten auch der Nitroglyzerin-induzierten Dilatation der Arteria brachialis wiederholt. Zur Charakterisierung der Patientenpopulation wurden die Plasmakonzentrationen des Kreatinin, der Nüchtern-glucose, des Gesamtcholesterins, des HDL-Cholesterins und der Triglyzeride bestimmt. Das LDL-Cholesterin wurde nach der Friedewald Formel errechnet. Die Thrombozytenadhäsivität wurde mit einem Plättchenadhäsionsassay (PADA) vor und nach der perkutanen Koronarintervention gemessen. Die perkutane Koronarintervention wurde nach Ermessen des studienunabhängigen Herzkatheterarztes durchgeführt. Bei allen Patienten wurde vor der perkutanen

Koronarintervention ein Bolus von 5000-10000 IE Heparin-Natrium (Liquemin® N 25000 von Roche) intraarteriell appliziert.

2.1.5. Abschätzung des Stichprobenumfangs

Als primärer Endpunkt der Studie wurde die Veränderung der flussvermittelten Dilatation der Arteria brachialis (gemessen in Prozentpunkten) zwischen der Ausgangsmessung vor der perkutanen Koronarintervention und der Abschlussmessung nach der perkutanen Koronarintervention festgelegt.

Die Nullhypothese H_0 bezüglich dieses Endpunktes lautet:

H_0 : Die Gabe einer Tirofibanbolusinjektion bei perkutaner Koronarintervention führt bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit im Mittel zu einer gleichen Änderung des Diameters der Arteria brachialis in Antwort auf eine fünf Minuten dauernde Okklusion in % wie die Nichtbehandlung mit Tirofiban.

Die Alternativhypothese H_1 bezüglich dieses Endpunktes lautet:

H_1 : Die Gabe einer Tirofibanbolusinjektion bei perkutaner Koronarintervention führt bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit im Mittel zu einer größeren positiven Änderung des Diameters der Arteria brachialis in Antwort auf eine fünf Minuten dauernde Okklusion in % wie die Nichtbehandlung mit Tirofiban.

Der erforderliche Stichprobenumfang zur Erkennung eines Unterschiedes für

$$H_0: \mu_{Tir} = \mu_{Ktr} \quad \text{vs.} \quad H_1: \mu_{Tir} > \mu_{Ktr}$$

beträgt bei Annahme einer Standardabweichung von 4% zur Erkennung eines Unterschiedes zwischen beiden Behandlungsgruppen von 2% mit dem 2 Gruppen-t-Test bei einer Power von 80% und einem α -Fehler von 5% 33 Patienten pro Behandlungsgruppe.

2.2. Studienmedikation

2.2.1. Pharmakologische Eigenschaften

Tirofibanhydrochlorid (Aggrastat[®], Merck & Co., Inc.) ist ein nicht-peptidischer Antagonist des gpIIb/IIIa- Rezeptors mit einem Molekulargewicht von 495,05 Dalton und wird strukturell als N-Butylsulfonyl-O-[4-(4-piperidinyl) Butyl]-L-Tyrosin beschrieben (C₂₂H₃₆N₂O₅S.HCL.H₂O) (Abbildung 1). Tirofiban ist wenig wasserlöslich und wurde als fertige Infusionslösung verwendet.

In 250ml Tirofiban Infusionslösung waren 28,09mg Tirofibanhydrochloridmonohydrat, entsprechend 25 mg Tirofiban (50µg/ml), und 4,5g Natriumchlorid, 270mg Natriumcitratdihydrat, und 16 mg Citronensäure bei einem pH zwischen 5,5 bis 6,5 enthalten.

Tirofiban führt zu einer dosisabhängigen, reversiblen Hemmung der gpIIb/IIIa-Rezeptorvermittelten Thrombozytenaggregation und -adhäsion. Nach Bolusinjektion ist innerhalb von 30 Minuten eine Thrombozytenaggregationshemmung von >90% erreichbar. Tirofiban hat eine Halbwertszeit von ca. 2 Stunden und wird zu 65% renal und 25% biliär überwiegend unverändert eliminiert.

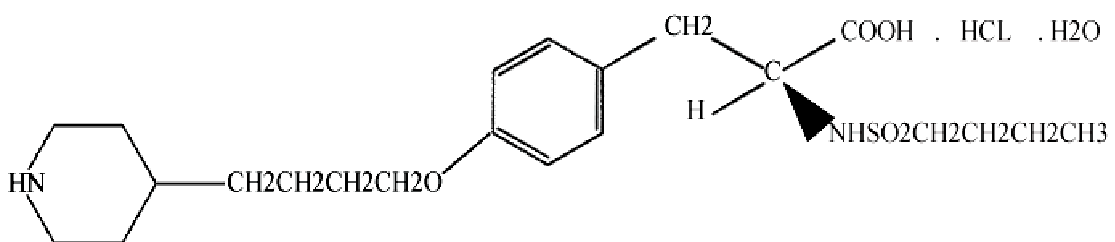


Abbildung 1: Tirofiban Strukturformel: C₂₂H₃₆N₂O₅S.HCL.H₂O

2.3. Untersuchung der Endothelfunktion

2.3.1. Flussabhängige Dilatation

Wie von Levine et al. (1996) beschrieben, wurde die Endothelfunktion nicht-invasiv durch die sonographische Messung der flussabhängigen Dilatation der Arteria brachialis dextra bestimmt.

2.3.1.1. Prinzip der flussabhängigen Dilatation

Das Prinzip der flussabhängigen Dilatation beruht auf der Stimulation des Endothels durch Scherkräfte. Durch eine fünfminütige Okklusion der Arteria brachialis wird eine Ischämie im Unterarm erzeugt, die zu einer Reduktion des peripheren Widerstandes des Unterarms durch Weitstellung der Widerstandsgefäße führt. Nach Ablassen der Okklusion entsteht eine Hyperämie, die durch eine Änderung der Wandschubspannung die Freisetzung von Stickstoffmonoxid und von Prostazyklin aus dem Endothel stimuliert. Nach 60 Sekunden lässt sich diese Freisetzung als Vasodilatation messen.

2.3.1.2. Untersuchungsablauf

Um den Einfluss externer Störfaktoren zu minimieren, erfolgten die Untersuchungen in einem ruhigen, abgedunkelten Raum bei Temperaturen von 20-24°C. Die gesamte Ultraschalluntersuchung erfolgte in Rückenlage. Die Messungen wurden mit einem 7,5 bis 12 MHz Linearschallkopf auf einem ATL HDI5000 Ultraschallsystem von Philips durchgeführt. Nach einer mindestens 10 Minuten dauernden Ruhephase erfolgte die Messung des Ausgangsdiameters im zweidimensionalen B-Modus. Hierzu wurde der Ultraschallkopf ungefähr 5 cm über der

Ellenbogenfalte longitudinal positioniert. Es wurde besondere Sorgfalt bei der Auswahl der besten Schallkopfposition ausgeübt, um möglichst artefaktfreie und überlagerungsfreie Bilder der Gefäßwandstrukturen zu erzielen. Zur Optimierung der Bildqualität erfolgte die Akquisition in der SonoCT Real-Zeit Compound Bildgebung. Ziel der Schallkopfpositionierung war es, einen longitudinalen Schnitt im Zentrum der Arteria brachialis über die gesamte Bildbreite in gleicher Eindringtiefe abzubilden (siehe Abbildung 2).

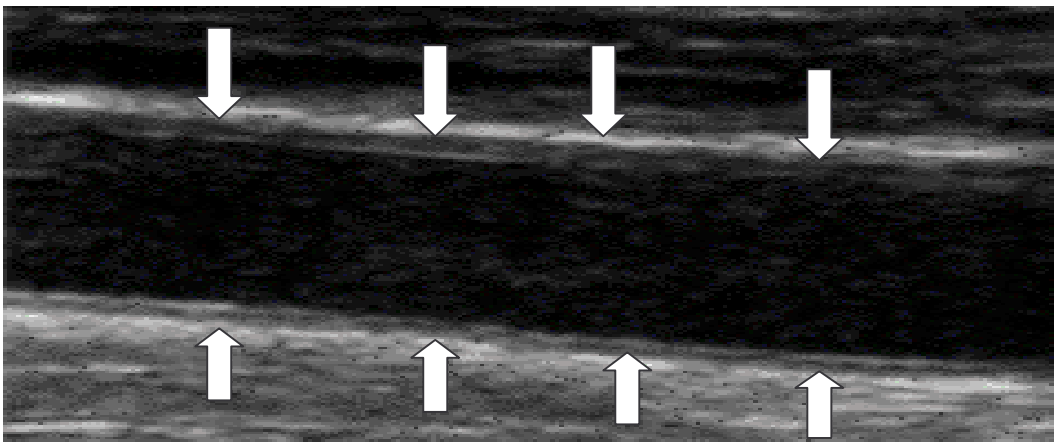


Abbildung 2: Longitudinale sonographische Darstellung der Arteria brachialis im 2D-Modus

Zuerst wurden zweidimensionale Bilder mit einer Frequenz von 25 Bildern/Sekunde über einen Zeitraum von 5 Sekunden akquiriert, um den Ausgangsdiameter zu erfassen. Anschließend wurde die Blutflussgeschwindigkeit in Ruhe im gepulsten Dopplermodus dargestellt, wobei das Signal bei einem Winkel von 67° zum Gefäßlumen in einem Dopplervolumen von 1,0 mm Tiefe im Zentrum der Arterie akquiriert wurde. Zur Erzeugung der Hyperämie wurde eine 8,75 cm breite Blutdruckmanschette (Hokanson®) am Oberarm bis zu 50 mmHg über den systolischen Blutdruck oder auf mindestens 200 mmHg aufgepumpt. Die arterielle Okklusion wurde für 5 Minuten beibehalten, wobei der

Ultraschallkopf sorgfältig in der Ausgangsposition gehalten wurde. Nach fünf Minuten wurde der Manschettendruck zügig abgelassen und unmittelbar mit dem beginnenden Bluteinstrom wurde die Steigerung der Blutflussgeschwindigkeit durch Akquisition gepulster Dopplerbilder für 5 Sekunden in dem gleichen Gefäßareal wie bei der Ausgangsmessung erfasst. Genau 60 Sekunden nach Ende der Okklusion wurden zweidimensionale Bilder der Arteria brachialis für 5 Sekunden aufgenommen. Dabei wurde sorgfältig darauf geachtet, dass der dargestellte Gefäßabschnitt exakt dem Abschnitt der Ausgangsmessung entsprach.

2.3.2. Endothelunabhängige Dilatation

Als Parameter der Funktion des Gefäßmuskels und der Compliance der Arteria brachialis wurde die Änderung des Gefäßdiameters nach Nitroglycerin gemessen. Wenn keine Unverträglichkeiten gegenüber Nitroglycerin vorlagen und der systolische Blutdruck über 100mmHg lag, wurden nach einer Ruhezeit von 15 Minuten erneut der Ausgangsdiameter im 2D-Modus und die Blutflussgeschwindigkeit im gepulsten Dopplermodus erfasst. Dann wurde dem Patienten eine Kapsel Nitroglycerin (Nitrolingual®, 1 Zerbeißkapsel 0,8 mg Glyceroltrinitrat, Pohl Boskamp) in den Mund gelegt und der Patient gebeten diese Kapsel zu zerbeißen und danach unter die Zunge zu legen. Während der Kapseleinnahme musste wiederum darauf geachtet werden, den Ultraschallkopf in der Ausgangsposition zu belassen. Vier Minuten nach dem Zerbeißen der Kapsel wurde der Gefäßdiameter im 2D-Modus und die Blutflussgeschwindigkeit im gepulsten Dopplermodus über 5 Sekunden erfasst. Alle Bilder wurden für spätere Analysen im DICOM Format aufgenommen und über ein Digitales Video Streaming (DVS) auf einer Multi Optical Disk (MOD) gespeichert.

2.3.3. Auswertung

Die Analyse des Gefäßdiameters erfolgte als Abstandsmessung zwischen der ventralen und dorsalen Intima-Mediagrenze. Zur Abstandsmessung wurde die kommerziell erhältliche Konturenerkennungssoftware (Brachial Analyser, Medical Imaging Application Ltd.) verwendet. Der Durchmesser der Arteria brachialis wurde in einem 5 bis 15 mm großen Segment vor und nach Erzeugung der reaktiven Hyperämie ausgewertet. Besondere Sorgfalt musste darauf gelegt werden identische Bereiche auszuwerten, indem auf gleiche anatomische Strukturen geachtet wurde. Die flussabhängige Dilatation (FMD) wurde aus der prozentualen Änderung zwischen dem Ausgangsdurchmesser und der Antwort auf die Hyperämie ermittelt.

$$\text{FMD} = \frac{d_n - d_v}{d_v} * 100$$

d_n : Durchmesser des Gefäßes nach der Hyperämie

d_v : Ausgangsdurchmesser des Gefäßes

Der Blutfluss der Arteria brachialis in Ruhe und während der reaktiven Hyperämie wurde nach folgender Formel ermittelt:

$$\int V_{f3} \cdot \left(\frac{\pi \cdot d^2}{400} \right) \cdot HF$$

V_{f3} = Fluss-Geschwindigkeits-Zeit-Integral der ersten 3 Schläge

d = Ausgangsdurchmesser des Gefäßes

HF = Herzfrequenz.

Die relative Änderung des Blutflusses während der reaktiven Hyperämie wurde als prozentuale Flussänderung im Vergleich zum Ausgangswert ausgedrückt (Abbildung 3).

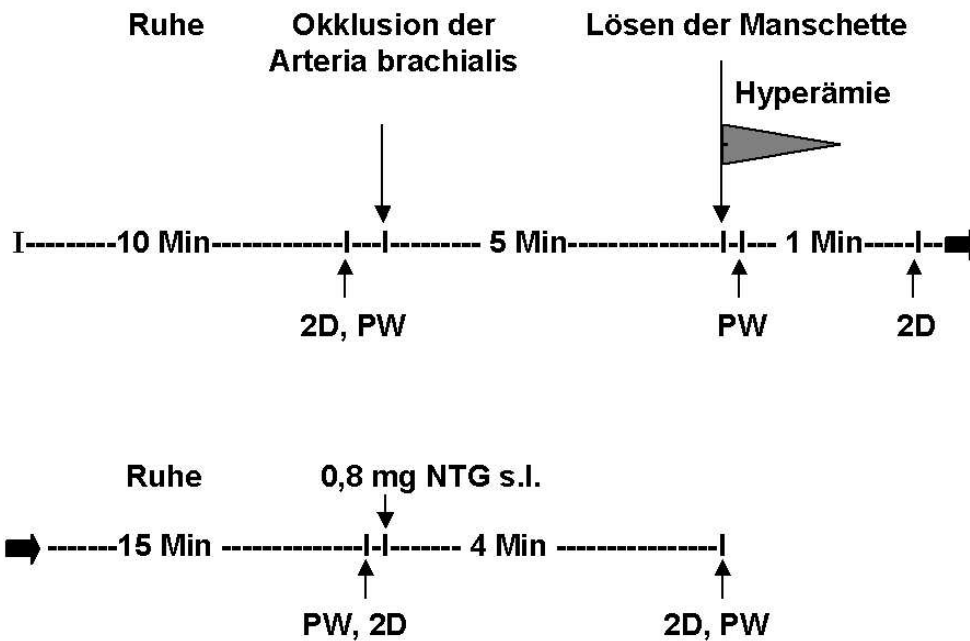


Abbildung 3: Ablauf der Untersuchung der flussabhängigen Dilatation und der Nitroglyzerin-induzierten Dilatation

2.3.4. Reproduzierbarkeit und Wiederholbarkeit

Die Reproduzierbarkeit und Wiederholbarkeit der flussabhängigen Dilatation der Arteria brachialis ist von zahlreichen vorherigen Untersuchern validiert worden (Corretti et al. 1995, Corretti et al. 1995, Levine et al. 1996, Sorensen et al. 1995). Die Reproduzierbarkeit der Konturenerkennungssoftware ist ebenfalls publiziert worden (Mancini et al. 2002). Zur Ermittlung der Wiederholbarkeit der flussabhängigen Dilatation wurden 17 gesunde Probanden ohne offensichtliche kardiovaskuläre Erkrankungen durch einen Untersucher im Abstand von 12 Wochen untersucht. Der Unterschied der flussabhängigen Dilatation zwischen der

Ausgangsmessung und der Messung nach 12 Wochen betrug 0,27% mit einer mittleren absoluten Änderung von $2,05 \pm 1,3\%$ (Mittelwert \pm SD).

2.3.4.1. Intraobservervariabilität

Zur Untersuchung der Reproduzierbarkeit der Bildauswertungssoftware und zum Abschätzen der Intraobservervariabilität wurde eine Ruheuntersuchung von jeder Person verblindet zweimal ausgewertet. Mit der linearen Regressionsanalyse der zwei Gefäßdurchmesser wurde ein Korrelationskoeffizient von 0,99 bestimmt. Die Durchschnittsdifferenz zwischen den Ermittlungen lag bei $0,034 \pm 0,008$ mm ($0,8 \pm 0,2\%$ des Gefäßdurchmessers).

2.3.4.2. Variabilität zwischen zwei Untersuchungen

Zur Beurteilung der Variabilität zwischen zwei Studien wurden neun Freiwillige zweimal innerhalb von einer Stunde untersucht. Der durchschnittliche Unterschied zwischen den beiden Bestimmungen vom selben Untersucher lag bei $0,07 \pm 0,02$ mm für den Ausgangswert ($4,45 \pm 0,2$ mm gegenüber $4,52 \pm 0,2$ mm) und $0,38 \pm 0,24\%$ ($7,16 \pm 1,60\%$ gegenüber $6,78 \pm 1,49\%$) für die flussabhängige Dilatation.

Diese Daten waren mit publizierten Daten anderer Arbeitsgruppen vergleichbar (Duffy et al. 2001).

2.4. Untersuchung des Einflusses einer diagnostischen Koronarangiographie auf die flussabhängige Dilatation

Um den Einfluss einer perkutanen Koronarintervention auf die flussabhängige Dilatation der Arteria brachialis von dem unspezifischen Einfluss einer Herzkatheteruntersuchung zu unterscheiden, wurde bei

weiteren 11 Patienten mit koronarer Herzkrankheit die flussabhängige Dilatation der Arteria brachialis vor und nach einer diagnostischen Koronarangiographie ohne Koronarintervention gemessen.

2.5. Blutuntersuchungen

2.5.1. Plättchenadhäsionsassay (PADA)

2.5.1.1. Hintergrund des Plättchenadhäsionsassays

GpIIb/IIIa- Rezeptoren spielen eine wichtige Rolle in der Vermittlung von Thrombozytenadhäsion an oberflächengebundenem Fibrinogen und in der Folge bei thromboembolischen Prozessen. Die diagnostische Messung des aktuellen Funktionszustandes der mehr als 1000 Milliarden Plättchen, die sich im zirkulierenden Blut befinden, bereitete bislang Schwierigkeiten. Die augenblicklich verwendeten Untersuchungen der Thrombozytenfunktion benutzen die verschiedensten Aggregationsagonisten (ADP, Kollagen, Thrombin, Ristocetin), um die Aggregationsfähigkeit von Thrombozyten in vitro zu messen. Um die Wirkung von gpIIb/IIIa-Rezeptorantagonisten auf die Thrombozytenadhäsion zu messen, wurde ein neuartiger in vitro Plättchenadhäsionsassay (PADA) verwendet. Der Test wurde von HaemoSys Ltd., Jena, Deutschland entwickelt und zur Verfügung gestellt.

2.5.1.2. Prinzip der Methode

Die Entstehung eines Thrombozytenkonglomerats, z.B. an einer in ihrer Oberflächenstruktur veränderten Gefäßwand, wird durch die lokale Adhäsion der Thrombozyten initiiert. Vor allem bei niedriger Scherspannung spielen die gpIIb/IIIa-Rezeptoren bei der Vermittlung der Adhäsion an oberflächengebundenem Fibrinogen eine wesentliche Rolle.

Der PADA benutzt das Ausmaß der Thrombozytenadhäsionsneigung als Marker für ihren aktuellen Funktionszustand. Das Prinzip des PADA besteht darin, dass sich das probeneigene Fibrinogen an hinzugegebene Polymerpartikel (siehe Abbildung 4) anheftet und intakte Thrombozyten der Probe an die Polymer-Fibrinogenkonstrukte adhären (siehe Abbildung 5) und damit in einer anschließenden Zählung der Thrombozyten nicht mehr nachweisbar sind. Somit entsprechen eine niedrige Thrombozytenzahl im Überstand einer hohen Anzahl funktionsfähiger Thrombozyten und umgekehrt. Der PADA ist zur Diagnose von Veränderungen der Thrombozytenfunktion und zur Überwachung der Therapie mit gpIIb/IIIa-Rezeptorantagonisten und ADP-Antagonisten geeignet.

2.5.1.3. Durchführung

Es wurde 4,5 ml arterielles Blut in einer grünen Sarstedt-Monovette® gesammelt, die 0,5 ml 3,8% Tri-Natriumcitratlösung (0,106 mol/L) enthielt. Nach 45-60 Minuten Inkubationszeit wurden 200µL Citratblut in jeweils ein 2000µL Reaktionsgefäß übertragen. Danach wurden 10µL einer kalibrierten Suspension mit Polymerpartikeln in eines dieser Reaktionsgefäße (Messprobe) und 10µL von der Kontroll suspension, die 0,9% Natriumchlorid enthielt, in das andere Reaktionsgefäß (Kontrollprobe) hinzugefügt. Um eine definierte Scherspannung in beiden Proben zu erreichen, wurden beide Reaktionsgefäße auf einem kalibrierten Schüttelgerät für 5 Minuten geschüttelt (IKA Works, Inc. Wilmington, NC, USA). Dann wurde die Thrombozytenzahl von einem automatisierten Hämatologieanalysator in der Messprobe und Kontrollprobe bestimmt (Sysmex KX21, Sysmex GmbH. Munelein, IL, USA).

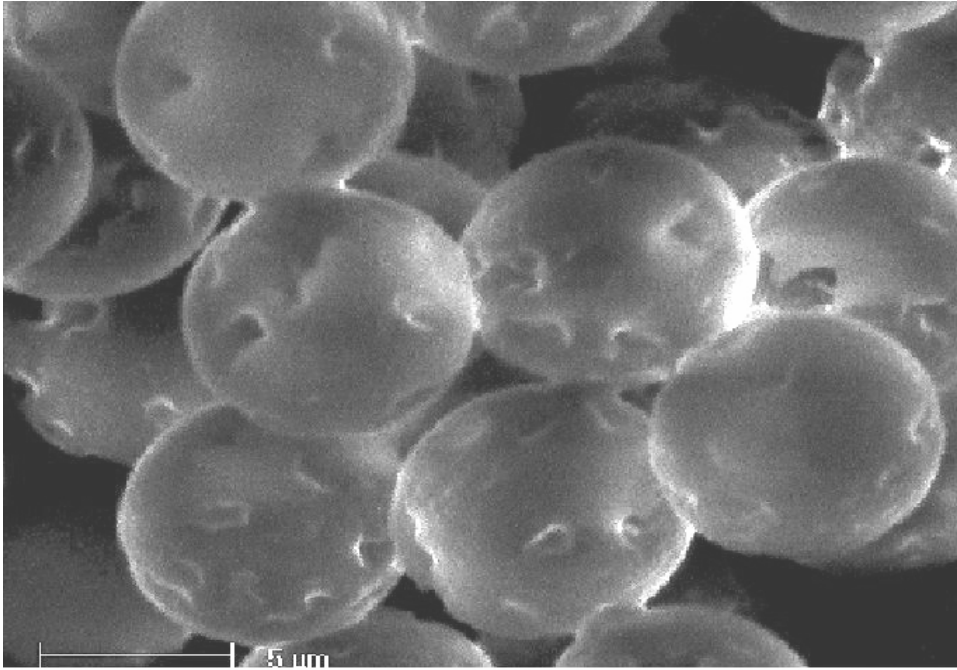


Abbildung 4: Elektronenmikroskopische Darstellung der PADA-Partikel

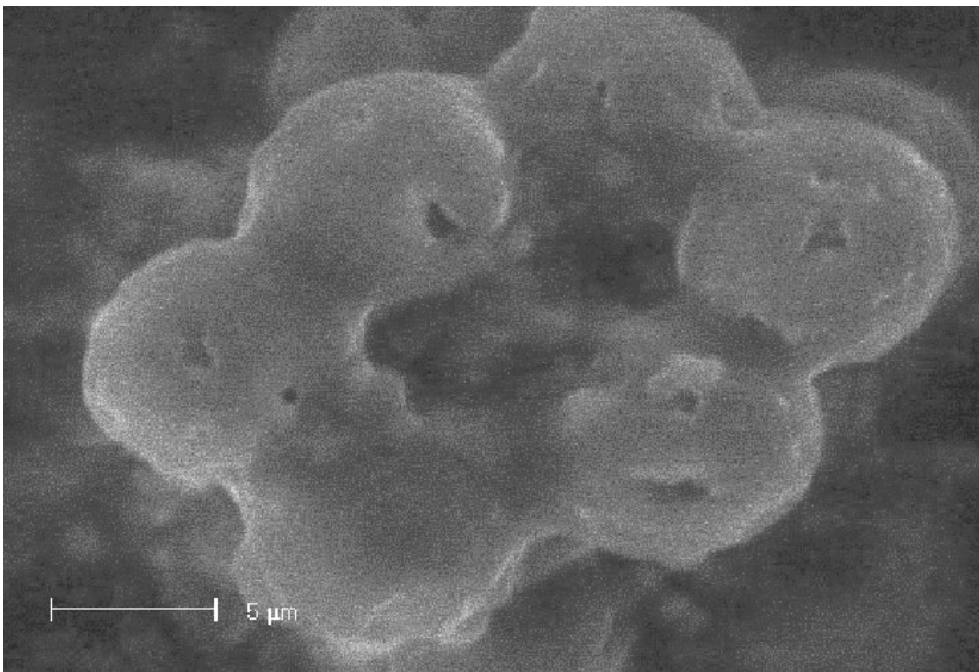


Abbildung 5: Elektronenmikroskopische Darstellung der Blutplättchenadhäsion an die Oberfläche der PADA-Partikel

Der Adhäsionsindex (AI) als Parameter funktionstüchtiger Thrombozyten wurde mit Hilfe der folgenden Formel berechnet:

$$\text{AI} = \left[\frac{\text{Anzahl der Thrombozyten in der Kontrollprobe} - \text{Anzahl der Thrombozyten in der Messprobe}}{\text{Anzahl der Thrombozyten in der Kontrollprobe}} \right] * 100$$

2.5.1.4. Charakterisierung des PADA bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit

Zur Ermittlung des Normalbereichs wurde bei 43 gesunden Probanden, die keine koronare Herzkrankheit hatten, der AI bestimmt. Bei dieser Gruppe gesunder Probanden war der AI im Mittel $56 \pm 3,7\%$ (SEM).

Um die Thrombozytenaktivität bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit zu prüfen, wurde in einer parallel durchgeführten Untersuchung der Adhäsionsindex für verschiedene Zustände einer koronaren Herzkrankheit bestimmt. Dazu wurden die 43 Probanden ohne bekannte koronare Herzkrankheit mit 149 Patienten mit koronarer Herzkrankheit (ohne Behandlung mit Clopidogrel oder gpIIb/IIIa-Rezeptorantagonisten) und stabiler Angina pectoris und 10 Patienten mit akutem Koronarsyndrom (AKS) verglichen. Während diese Untersuchungen keinen Unterschied zwischen der Gruppe ohne koronare Herzkrankheit und der Gruppe mit koronarer Herzkrankheit ergab, war der AI bei der AKS-Gruppe signifikant erhöht ($56,0 \pm 3,7\%$ in der Normalgruppe im Vergleich zu $57,7 \pm 1,9\%$ bei der KHK-Gruppe und $77,0 \pm 5,5\%$ bei der AKS-Gruppe (Abbildung 6)).

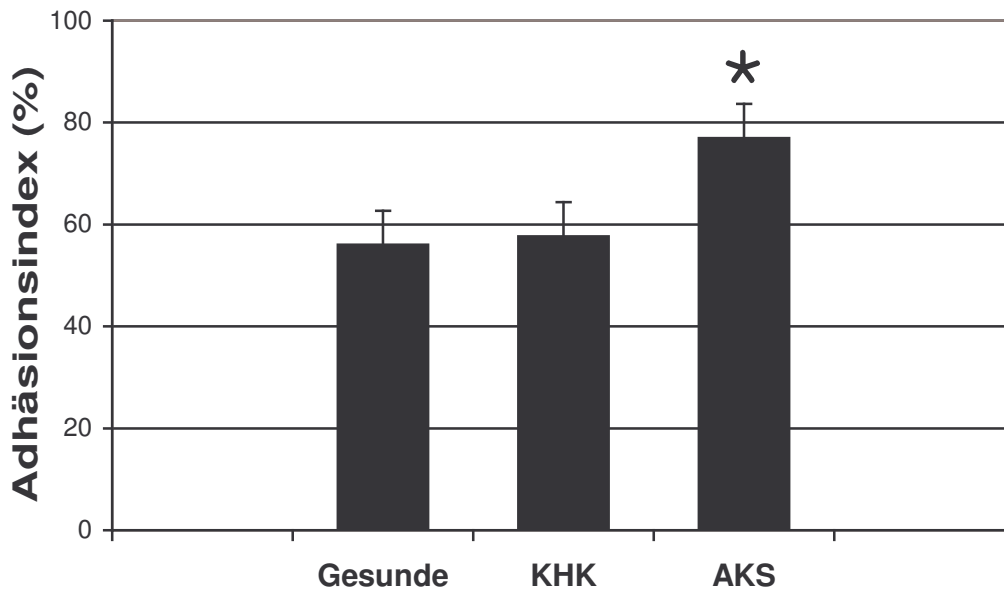


Abbildung 6: PADA bei Patienten ohne koronare Herzkrankheit (Gesunde), bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit (KHK) und bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom (AKS).

* $p=0,011$ vs. Gesunde, $p= 0,011$ vs. KHK

2.5.1.5. Einfluss verschiedener Pharmaka auf den PADA

Zur weiteren Charakterisierung des PADA wurde der Einfluss verschiedener, potentiell thrombozytenwirksamer Pharmaka auf den PADA untersucht. Die Behandlung von 52 Patienten mit Tirofiban führte zu einer signifikanten Reduktion des AI ($54,6\pm 3,2\%$ vor vs. $13,5\pm 1,9\%$ nach Tirofiban). Die Gabe des gpIIb/IIIa-Rezeptorantagonisten Abciximab (Reopro[®]) führte bei sechs Patienten zu einer stärkeren Reduktion des AI ($68,5\pm 7,0\%$ vor vs. $0,9\pm 0,4\%$ nach Abciximab; siehe Abbildung 7).

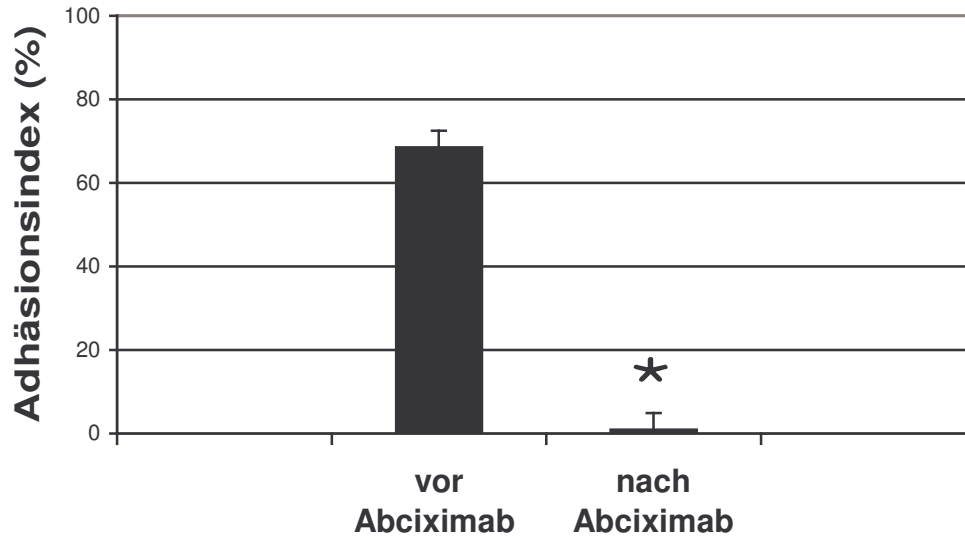


Abbildung 7: PADA unter Behandlung mit Abciximab

* $p < 0.001$ vs. vor Abciximab

Die Behandlung mit unfraktioniertem Heparin führte bei 12 Patienten nur zu einer schwachen Reduktion des AI ($58,9 \pm 7,3$ vor vs. $54,6 \pm 7,0\%$ nach Heparin).

Bei 52 Patienten mit koronarer Herzkrankheit, die für mehr als 24 Stunden mit dem ADP-Rezeptorantagonisten Clopidogrel (Plavix®) behandelt wurden, war der AI signifikant niedriger im Vergleich zu Patienten mit koronarer Herzkrankheit ohne Clopidogrelbehandlung ($57,7 \pm 1,9\%$ ohne vs. $45,9 \pm 3,5\%$ mit Clopidogrel ($p = 0,047$) siehe Abbildung 8).

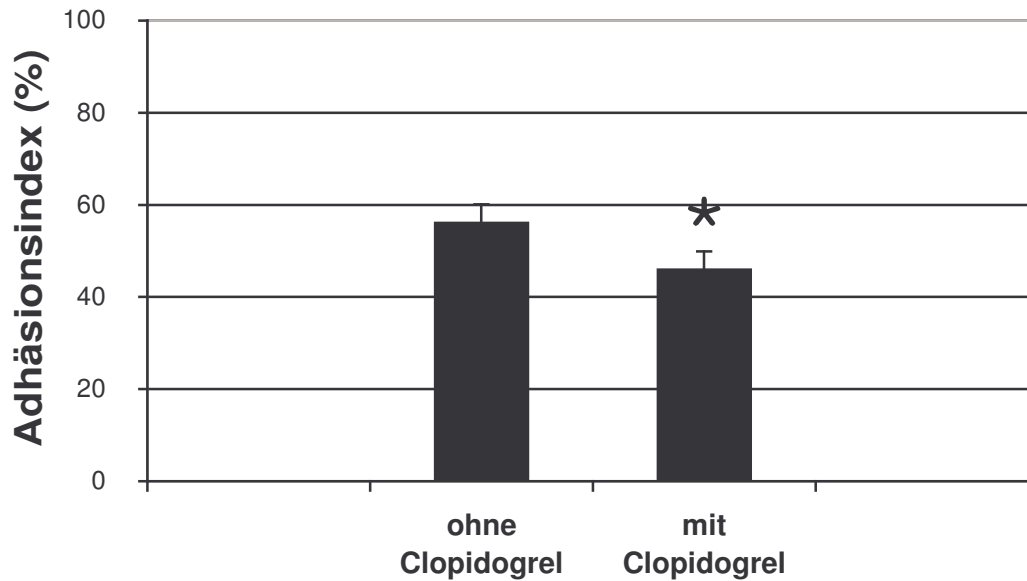


Abbildung 8: Einfluss einer Behandlung mit Clopidogrel auf den Adhäsionsindex bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit. * $p=0.047$ vs. ohne Clopidogrel

Diese Daten zeigen, dass die Wirkung einer Behandlung mit einem gpIIb/IIIa-Rezeptorantagonisten oder einem ADP-Rezeptorantagonisten auf die Thrombozytenadhäsion durch den PADA gemessen werden kann.

2.5.2. Laborparameter zur Charakterisierung der Patientenpopulation

Es wurden bei allen Patienten die Plasmakonzentrationen für Glucose, Kreatinin, Harnsäure, Gesamtcholesterin, HDL-Cholesterin, Triglyzeride bestimmt, wobei es keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen gab (Tabelle 2). Das LDL-Cholesterin wurde nach der Friedemann-Formel berechnet.

2.6. Klinische Untersuchung

Bei allen Patienten wurde der Ruheblutdruck und Puls gemessen, sowie der Body-Maß-Index berechnet. Außerdem wurden alle Patienten zur ihrer bisherigen Krankheitsgeschichte sowie ihren kardialen Risikofaktoren und ihrer Medikamenteneinnahme gefragt. Um das kardiale Risiko der beiden Untersuchungsgruppen zu vergleichen, wurde aus dem Alter, dem systolischen Blutdruck, dem LDL-Cholesterin, dem HDL-Cholesterin, den Triglyceriden, dem Vorliegen eines Diabetes, eines Nikotinkonsums und einer positiven Familienanamnese nach den Ergebnissen der PROCAM-Studie (Assmann et al. 2002) das 10-Jahres Risiko der Patienten für das Auftreten eines Herzinfarktes abgeschätzt. Hinsichtlich dieser Parameter gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen (Tabelle 2).

2.7. Statistische Analyse

Der primäre Endpunkt der Studie war die Wirkung von Tirofiban auf die flussabhängige Dilatation der Arteria brachialis.

Die FMD der Arteria brachialis und der AI der Tirofibangruppe und der Kontrollgruppe wurden durch einen ungepaarten Student's t-Test verglichen. Zum Vergleich aller Parameter (z.B. FMD, NMD) eines Individuums innerhalb der Gruppen vor und nach der perkutanen Koronarintervention (PTCA) wurde der gepaarte Student's t-Test angewendet.

Zur Untersuchung der Vergleichbarkeit der zwei Studiengruppen wurden stetige Kenngrößen durch die Anwendung des ungepaarten Student's t-Tests verglichen und Häufigkeiten von Merkmalen durch den Chi-Quadrat- oder Z-Test verglichen.

3. Ergebnisse

3.1. Studienpopulation

Sechshundsechzig Patienten wurden in die Studie eingeschlossen. Dreiunddreißig Patienten erhielten aus klinischen oder angiographischen Gründen während der PTCA eine intravenöse Bolusinjektion Tirofiban (10µg/kg Körpergewicht). Die dreiunddreißig Patienten der Kontrollgruppe dagegen bekamen kein Tirofiban. Zwischen beiden Gruppen gab es keinen Unterschied bezüglich der Dauer der PTCA, des Zeitintervalls zwischen dem Ende der PTCA und der zweiten Ultraschalluntersuchung, der Anzahl der Stentimplantationen, der eingesetzten Kontrastmittelmenge, der Menge des applizierten unfraktionierten Heparins, der Dauer der Nüchternzeit (siehe Tabelle 1). Außerdem gab es keinen Unterschied bezüglich des Alters, des Geschlechts, des Body-Maß-Index, des Blutdrucks, des Anteils an Rauchern, Diabetikern oder Patienten mit Mehrgefäßerkrankungen, begleitender ACE-Hemmer- oder Statintherapie (Tabelle 2).

Tabelle 1: Gruppenvergleich der Merkmale der perkutanen Koronarintervention

	Tirofiban Gruppe	Kontroll Gruppe	p
	n= 33	n = 33	
Dauer der PTCA (min)	75±4	68±6	n.s.
Direkte Stentimplantation, n (%)	8 (24)	7 (21)	n.s.
Stent nach PTCA, n (%)	22 (66)	20 (60)	n.s.
PTCA ohne Stentimplantation, n (%)	3 (9)	6 (18)	n.s.
Kontrastmittelmenge (ml)	217±16	199±11	n.s.
Heparin i.c. (IE)	6875±268	6812±315	n.s.
Clopidogrelvorbehandlung, n (%)	10 (30)	10 (30)	n.s.
Zeitintervall nach PTCA bis zur Ultraschallmessung (min)	20±3	25±2	n.s.
Nüchternzeit (h)	16,3±0,4	17,0±0,4	n.s.

Die Daten sind als Mittelwert ±SEM angegeben oder n (%).

Tabelle 2: Gruppenvergleich der klinischen und laborchemischen Merkmale

	Tirofiban Gruppe	Kontroll Gruppe	p
	n= 33	n = 33	
Alter, Jahre	66±2	64±2	n.s.
Frauen, n (%)	2 (6)	3 (9)	n.s.
BMI, kg/m ²	26,8±0,6	27,4±0,7	n.s.
Hypertonie, n (%)	16 (48)	15 (45)	n.s.
Raucher, n (%)	7 (21)	13 (39)	n.s.
Diabetes, n (%)	4 (12)	9 (27)	n.s.
Hypercholesterinämie, n (%)	21 (64)	22 (67)	n.s.
Harnsäure	6,2±0,5	6,2±0,2	n.s.
Kreatinin	1,0±0,04	1,0±0,04	n.s.
Blutzucker	124±6	118±5	n.s.
Gesamtcholesterin, mg/dl	188±6	186±8	n.s.
LDL-Cholesterin, mg/dl	110±6	109±7	n.s.
HDL-Cholesterin, mg/dl	49±3	48±2	n.s.
Triglyceride, mg/dl	140±10	151±12	n.s.
RR systolisch (mmHg)	139±3	136±3	n.s.
RR diastolisch (mmHg)	77±1	77±2	n.s.
PROCAM Score (%)	11,2±1,5	11,8±1,6	n.s.
Mehrf Gefäßkrankungen, n(%)	26 (79)	25 (76)	n.s.
ACE-Hemmertherapie, n (%)	16 (48)	17 (52)	n.s.
CSE-Hemmertherapie, n (%)	17 (52)	25 (76)	n.s.

Die Daten sind angegeben als Mittelwert ± SEM oder n (%). BMI = Body-Maß-Index. PROCAM Score: Wahrscheinlichkeit innerhalb der nächsten 10 Jahre einen Myokardinfarkt zu erleiden (Assmann et al. 2002).

3.2. Endothelabhängige Dilatation

3.2.1. Einfluss einer Koronarintervention und einer Tirofibanbolusinjektion auf die flussabhängige Dilatation der Arteria brachialis.

In beiden Gruppen waren die Ausgangswerte für die flussabhängige Dilatation, den Diameter der Arteria brachialis und das Ausmaß der reaktiven Hyperämie (%) vergleichbar.

Die Parameter der Ultraschalluntersuchung der Arteria brachialis (Ausgangsdiameter, flussabhängige Dilatation absolut und relativ) für die Tirofibangruppe (TIR) sowie für die Kontrollgruppe (KTR) sind in Tabelle 3 aufgelistet. In der Kontrollgruppe war die FMD nach der PTCA signifikant schlechter als vor der PTCA. Im Gegensatz dazu hat die Behandlung mit Tirofiban (10µg/kg Körpergewicht) zu einer signifikanten Verbesserung der FMD nach der PTCA geführt (siehe Abbildung 9).

Analog zu den Ergebnissen der relativen FMD haben sich die absoluten Diameteränderungen nach reaktiver Hyperämie geändert, d.h. eine Zunahme in der Tirofibangruppe und eine Abnahme in der Kontrollgruppe (0,30±0,02 mm vor vs. 0,39±0,02 mm nach PTCA in der Tirofibangruppe und 0,30±0,03 mm vor vs. 0,23±0,03 mm nach PTCA in der Kontrollgruppe).

Tabelle 3: Parameter der Arteria brachialis

	Tirofiban Gruppe	Kontroll Gruppe	p
	n= 33	n = 33	
Ausgangsdiameter (mm)			
vor PTCA	5,06±0,08	5,02±0,1	n.s.
nach PTCA	5,12±0,08	5,12±0,1	n.s.
p	n.s.	n.s.	
Reaktive Hyperämie (% Zunahme)			
vor PTCA	785±63	681±50	n.s.
nach PTCA	844±61	777±39	n.s.
p	n.s.	n.s.	
Flussabhängige Zunahme des Diameters (mm)			
vor PTCA	0,30±0,02	0,30±0,03	n.s.
nach PTCA	0,39±0,02	0,23±0,03	0,0003
p	<0,0001	0,008	
Flussabhängige Dilatation (%)			
vor PTCA	6,0±0,4	6,1±0,6	n.s.
nach PTCA	7,8±0,5	4,7±0,7	0,0006
p	<0,0001	0,006	
NTG-abhängige Dilatation (%)			
vor PTCA	10,5±1,5	9,8±2,3	n.s.
nach PTCA	10,2±2,1	9,0±2,3	n.s.
p	n.s.	n.s.	
Adhäsionsindex (%)			
vor PTCA	53,6±4,7	48,3±6,1	n.s.
nach PTCA	16,5±2,3	45,7±5,5	<0,0001
p	<0,0001	n.s.	

Die Daten sind als Mittelwert ±SEM angegeben.

Das Ausmaß der reaktiven Hyperämie (%) als Parameter des Endothelstimulus war innerhalb der Gruppen und zwischen den Gruppen jeweils vor und nach Intervention vergleichbar (siehe Tabelle 3).

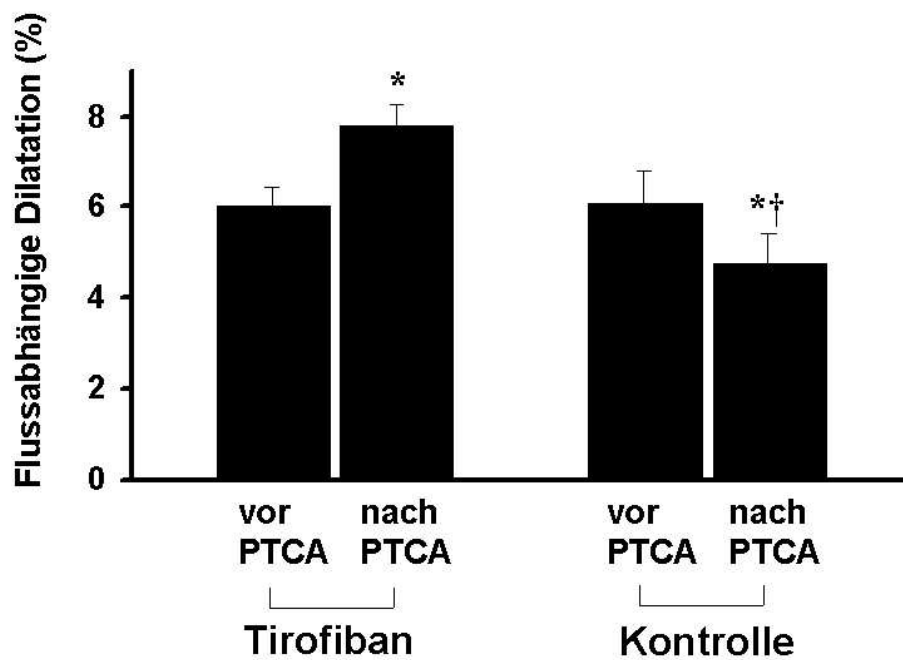


Abbildung 9: Einfluss einer Bolusinjektion Tirofiban i.v. (10 μ g/kg Körpergewicht) auf die flussabhängige Dilatation der Arteria brachialis bei perkutaner Koronarintervention.
* p<0.001 vs. vor PTCA. † p<0.01 vs. Tirofiban

3.2.2. Einfluss einer diagnostischen Koronarangiographie auf die flussabhängige Dilatation der Arteria brachialis.

Bei 11 Patienten mit koronarer Herzkrankheit wurde eine diagnostische Koronarangiographie ohne Durchführung einer Koronarintervention durchgeführt. Die klinischen und laborchemischen Parameter haben sich von der Gruppe der Patienten, die eine Koronarintervention erhalten haben, nicht unterschieden (siehe Tabelle 4).

Tabelle 4: Klinische und laborchemische Merkmale der Patienten, die eine perkutane Koronarintervention (PTCA) bzw. eine diagnostische Koronarangiographie (DKA) erhalten haben.

	PTCA Gruppe	DKA Gruppe	p
	n= 33	n = 11	
Alter, Jahre	64±2	67±2	n.s.
Frauen, n (%)	3 (9)	3 (27)	n.s.
BMI, kg/m ²	26,8±0,6	27,4±0,7	n.s.
LDL-Cholesterin, mg/dl	109±7	112±15	n.s.
Systolischer Blutdruck (mmHg)	136±3	142±6	n.s.
PROCAM Score (%)	11,8±1,6	11,2±3,1	n.s.
Mehrgefäßerkrankung, n (%)	25 (76)	6 (54)	n.s.
Clopidogrelvorbehandlung, n (%)	10 (30)	2 (18)	n.s.

Die Daten sind als Mittelwert±SEM oder Anzahl n (%) dargestellt. BMI: Body-Maß-Index. DKA: Diagnostische Koronarangiographie. PTCA: Perkutane Koronarintervention. PROCAM Score: Wahrscheinlichkeit

innerhalb der nächsten 10 Jahre einen Myokardinfarkt zu erleiden (Assmann et al. 2002).

Im Gegensatz zu der Patientengruppe, die eine perkutane Koronarintervention erhalten hat (siehe Abschnitt 3.2.1), war die flussabhängige Dilatation der Arteria brachialis in der Gruppe der Patienten, die eine diagnostische Koronarangiographie erhalten hat, unverändert (s. Tabelle 5).

Tabelle 5: Ultraschalldaten der Patienten, die eine perkutane Koronarintervention (PTCA) bzw. eine diagnostische Koronarangiographie (DKA) erhalten haben.

	PTCA Gruppe	DKA Gruppe	p
	n= 33	n = 11	
Ausgangsdiameter (mm)			
vor	5,02±0,1	4,93±0,2	n.s.
nach	5,12±0,1	5,02±0,2	n.s.
P	n.s.	n.s.	
Reaktive Hyperämie (%)			
vor	681±50	813±56	n.s.
nach	777±39	776±88	n.s.
P	n.s.	n.s.	
Flussabhängige Dilatation (%)			
vor	6,1±0,6	5,4±0,8	n.s.
nach	4,7±0,7	5,3±0,9	n.s.
P	0,006	n.s.	

Die Daten sind als Mittelwert ±SEM angegeben.

3.3. Endothelunabhängige Dilatation

Die endothelunabhängige Nitroglycerin-induzierte Dilatation der Arteria brachialis hat sich in beiden Gruppen vor und nach der PTCA nicht geändert (siehe Abbildung 10, Tabelle 3).

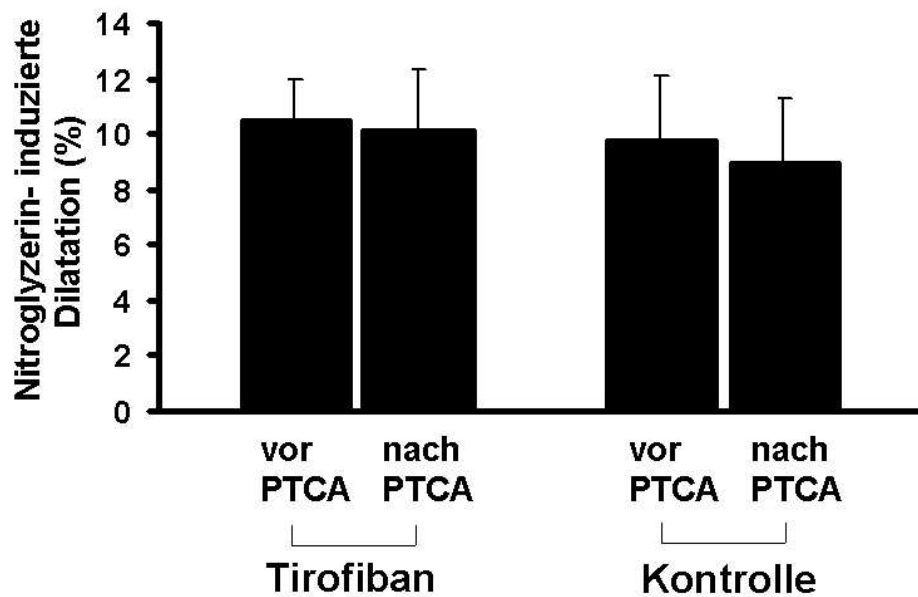


Abbildung 10: Nitroglycerin-induzierte Dilatation der Arteria brachialis vor und nach PTCA in der Tirofiban-Gruppe und Kontrollgruppe

3.4. Ergebnisse des PADA

Der Adhäsionsindex (AI) wurde bei 29 Patienten in der TIR Gruppe und bei 25 Patienten in der KTR Gruppe gemessen. Es gab keinen signifikanten Unterschied in den Ausgangswerten für beide Gruppen.

Nach der PTCA war der Adhäsionsindex in der Tirofibangruppe als Nachweis der plättcheninhibitorischen Wirkung des Tirofiban signifikant reduziert ($53,6 \pm 4,7$ % vor vs. $16,5 \pm 2,3$ % nach PTCA, $P < 0,0001$). Im Vergleich dazu ist der AI in der Kontrollgruppe unverändert geblieben ($48,3 \pm 6,14$ % vor vs. $45,7 \pm 5,45$ % nach PTCA (siehe Abbildung 11)).

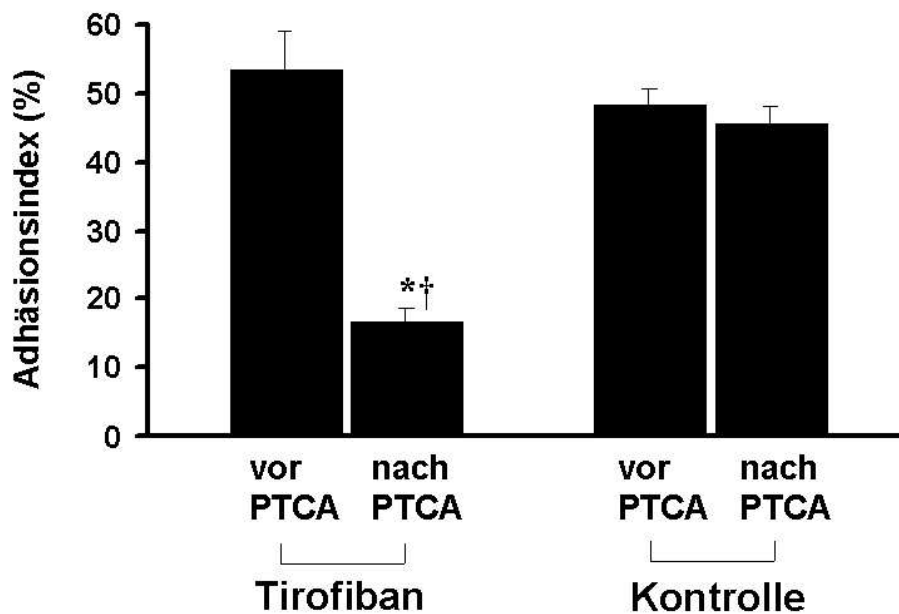


Abbildung 11: Veränderungen des Adhäsionsindex in der Tirofibangruppe und Kontrollgruppe

* $p < 0,0001$ vs. vor PTCA. † $p < 0,0001$ vs. Kontrolle.

4. Diskussion

Mit der vorliegenden Arbeit konnte erstmals gezeigt werden, dass die Durchführung einer perkutanen Koronarintervention zu einer akuten Verschlechterung der Endothelfunktion peripherer Leitungsarterien führt und, dass diese Verschlechterung der Endothelfunktion durch die gleichzeitige Behandlung mit dem gpIIb/IIIa-Rezeptorantagonisten Tirofiban nicht nur verhindert werden kann, sondern dass die Behandlung mit dem gpIIb/IIIa-Rezeptorantagonisten Tirofiban die Endothelfunktion peripherer Leitungsarterien sogar verbessert. Dieses Ergebnis ist insofern erstaunlich, da die Veränderung der Endothelfunktion weit entfernt von der Lokalisation der Intervention gemessen wurde. Diese Daten unterstützen die Hypothese, dass aktivierte Thrombozyten einen gpIIb/IIIa-Rezeptorvermittelten Einfluss auf das Gefäßendothel ausüben.

4.1. Einfluss einer perkutanen Koronarintervention auf die flussabhängige Dilatation der Arteria brachialis

Die flussabhängige Dilatation gilt als anerkannte Methode zur Messung der Endothelfunktion arterieller Leitungsarterien (Corretti et al. 2002). Das Gefäßendothel nimmt als größtes menschliches Organ eine Fläche von rund 100m² ein, und übt zahlreiche Funktionen aus, die einer Entwicklung der Atherosklerose und ihrer Komplikationen entgegenwirken. Der Produktion von Stickstoffmonoxid durch die endotheliale NO-Synthase kommt dabei entscheidende Bedeutung zu. Aufgrund der inhibitorischen Eigenschaften des NO auf die Thrombozytenaggregation und –adhäsion trägt eine hohe NO-Bioverfügbarkeit und damit eine intakte Endothelfunktion in Regionen einer perkutanen Koronarintervention zur Verhinderung ischämischer Komplikationen nach perkutaner Koronarintervention bei. In der Literatur finden sich bisher lediglich Untersuchungen, die den Einfluss einer perkutanen Koronarintervention auf die koronare Endothelfunktion untersucht haben. So konnten el-Tamimi et al. (1993) acht Tage nach perkutaner Ballonangioplastie

zeigen, dass unter einer Azetylcholininfusion eine abnorme Konstriktion der angioplastierten Koronararterie im Vergleich zu einer nicht angioplastierten Koronararterie als Zeichen einer Endotheldysfunktion auftritt. Caramori et al. (1999) haben gezeigt, dass auch mehr als sechs Monate nach einer Koronarangioplastie eine endotheliale Dysfunktion in dem angioplastierten Koronargefäß im Vergleich zu dem nicht angioplastierten Gefäß nachweisbar ist. Dabei war die endotheliale Dysfunktion nach Stentimplantation im Vergleich zur alleinigen Ballonangioplastie ausgeprägter. Es wird angenommen, dass die Balloninflation und die Impression des Stents in die Koronararterie, die zu einer mechanischen Schädigung der Gefäßwand mit Destruktion und Kompression atheromatöser Plaques und Denudation des Endothels führt, die Ursache für die endotheliale Dysfunktion in dem angioplastierten und distal davon gelegenen Gefäßabschnitt ist. Nach einer Angioplastie konnte eine Aktivierung von Thrombozyten (Neumann et al. 1996) mit gesteigerter Thrombozyten-Leukozyteninteraktion (Merhi et al. 1999, Merhi et al. 1997) nachgewiesen werden. Diese führt über eine Stimulation des α -M- β 2 Leukozytenintegrin (mac-1) (Inoue et al. 2003) zu einer Adhäsion polymorphkerniger Leukozyten an die Gefäßwand. In der Folge kommt es zur Initiierung einer Entzündungskaskade mit Freisetzung von Chemokinen, Zytokinen, der Aktivierung Superoxidanionen bildender Oxidasen (Jacobson et al. 2003, Serrano et al. 1997) und Stimulation einer Antikörperbildung gegen oxidiertes LDL-Cholesterin als Hinweis für gesteigerten oxidativen Stress (George et al. 1999). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass es nicht nur in den angioplastierten Koronargefäßen zu einer Endotheldysfunktion kommt, sondern dass es zumindest unmittelbar nach der Koronarintervention auch zu einer Verschlechterung der Endothelfunktion peripherer Leitungsarterien kommt. Dabei scheint dieser Effekt von den allgemeinen Umständen einer Herzkatheteruntersuchung, wie z.B. Interventionszeit, Kontrastmittelmenge, Heparindosis, unabhängig zu sein und unmittelbar mit der Intervention selbst zusammenzuhängen, da eine diagnostische

Koronarangiographie ohne Intervention ohne Einfluss auf die Endothelfunktion der Arteria brachialis geblieben ist.

4.2. Einfluss einer gpIIb/IIIa-Rezeptorblockade auf die flussabhängige Dilatation der Arteria brachialis

Die transmembranären gpIIb/IIIa-Rezeptoren bilden die gemeinsame Endstrecke für die Thrombozytenaggregation nach Aktivierung der Thrombozyten durch verschiedene Stimuli (siehe Abbildung 12). Eine gesteigerte Thrombozytenaggregation und –adhäsion spielt eine wesentliche Rolle bei der Pathogenese des akuten Koronarsyndroms und ischämischer Komplikationen nach perkutaner Koronarintervention (Gefäßverschluss, In-Stent-Thrombose, Störung der Mikrozirkulation). Aufgrund zahlreicher Studien wird seit einigen Jahren die akute und kurzfristige parenterale Gabe von gpIIb/IIIa-Rezeptorantagonisten bei der Behandlung eines akuten Koronarsyndroms oder zur Reduktion ischämischer Komplikationen einer perkutanen Koronarintervention bei Patienten mit erhöhtem Risiko eingesetzt. Insbesondere Studien mit dem gpIIb/IIIa-Rezeptorantagonist abciximab, aber auch mit Tirofiban und Eptifibatide, haben eine signifikante Reduktion ischämischer Komplikationen gezeigt (Boersma et al. 1999, The CAPTURE Investigators 1997, The EPILOG Investigators 1997, The EPISTENT Investigators 1998, The ESPRIT Investigators 2000). Die Verbesserung der Prognose geht dabei interessanterweise bei einem Follow-Up der Studien von bis zu einem Jahr weit über die Dauer der Behandlung mit gpIIb/IIIa-Rezeptorantagonisten hinaus, die in der Regel zwischen 12 und 24 Stunden dauert (The EPISTENT Investigators 1998, The ESPRIT Investigators 2000). Dieses weist auf eine entscheidende Bedeutung der periinterventionellen Behandlung für die Langzeitprognose hin.

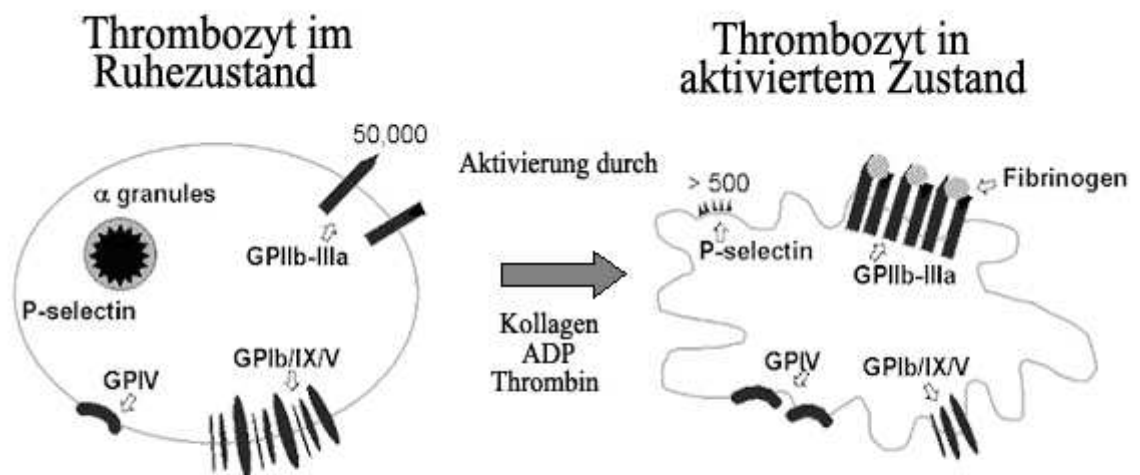


Abbildung 12:

Das Glykoprotein IIb/IIIa ist mit 50000-100000 Kopien pro Thrombozyt der häufigste transmembranäre Integrinrezeptor der Thrombozyten. Im Ruhezustand befindet sich ein Teil der gpIIb/IIIa Dimere in Membranen intrazellulär gelegener α -Granula. Nach Aktivierung der Thrombozyten durch verschiedene Agonisten (z.B. ADP, Thrombin oder Kollagen) ändern die gpIIb/IIIa Dimere ihre Konformation derart, dass Fibrinogen an die Bindungsstellen der gpIIb/IIIa-Rezeptorproteine binden kann. Die Bindung von Fibrinogen an gpIIb/IIIa-Rezeptoren mehrerer Thrombozyten führt zur Thrombozytenaggregation.

Bisher gibt es nur wenige Studien in der Literatur, die den Einfluss von gpIIb/IIIa Rezeptorantagonisten auf die Endothelfunktion bei perkutaner Koronarintervention untersucht haben. Aymong et al. (2002) haben gezeigt, dass eine Reduktion des Azetylcholin abhängigen koronaren Blutflusses nach koronarer Stentimplantation als Ausdruck einer endothelialen Dysfunktion der Mikrozirkulation durch die Gabe des

gpIIb/IIIa Rezeptorantagonisten Abciximab verhindert werden kann. Heitzer et al. (2003) konnten bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit zeigen, dass eine gpIIb/IIIa-Rezeptorblockade die endotheliale Dysfunktion der Mikrozirkulation des Unterarms verbessert und dass eine Steigerung der NO-Bioverfügbarkeit zu der Verbesserung der endothelialen Dysfunktion beiträgt. Die bisherigen Untersuchungen haben sich ausschließlich auf die Mikrozirkulation bezogen. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit erweitern die Erkenntnisse über die Mikrozirkulation auf die Leitungsarterien. Dieses ist besonders wichtig, da die Atherosklerose und insbesondere die koronare Herzkrankheit in erster Linie auch die Leitungsarterien betreffen. Da zwei Studien eine signifikante Korrelation der Messung der flussabhängigen Dilatation der Arteria brachialis mit der Endothelfunktion der Koronararterien gezeigt haben, ist zu vermuten, dass die Ergebnisse dieser Arbeit möglicherweise auf die koronaren Leitungsgefäße übertragen werden können (Anderson et al. 1995, Takase et al. 1998). Der genaue Mechanismus, über den eine gpIIb/IIIa Rezeptorblockade die endotheliale NO-Bioverfügbarkeit und damit die Endothelfunktion beeinflusst, ist bisher nicht geklärt. Da die gpIIb/IIIa Rezeptoren als transmembranäre Integrine die Signaltransduktionswege sowohl von intrazellulär nach extrazellulär als auch von extra- nach intrazellulär beeinflussen, wäre es denkbar, dass einerseits die Signaltransduktion innerhalb der Thrombozyten oder andererseits die extrazellulären Effekte einer Hemmung der Thrombozytenaggregation oder –adhäsion für den Einfluss der gpIIb/IIIa Rezeptorblockade auf die flussabhängige Dilatation verantwortlich ist. Ob es einen direkten Einfluss der aktivierten Thrombozyten auf die Endothelfunktion gibt, oder ob es sich um indirekte Effekte handelt, die z.B. über die Aktivierung von Leukozyten vermittelt werden (Kaul et al. 1994), lässt sich aus den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit nicht ableiten. Einer der wichtigsten Mechanismen, die eine Verminderung der NO-Bioverfügbarkeit und damit eine Endotheldysfunktion bewirken, ist die Steigerung der Bildung reaktiver Sauerstoffspezies wie z.B. die Superoxidanionen, die eine hohe Affinität für die Bindung an NO haben

und damit NO inaktivieren (Warnholtz et al. 2001). Zahlreiche Studien haben belegt, dass es bei dem Vorliegen koronarer Risikofaktoren, wie der arteriellen Hypertonie (Germano et al. 2004), der Hypercholesterinämie (Warnholtz et al. 1999), eines Diabetes mellitus (Hink et al. 2001) oder eines chronischen Nikotinabusus (Heitzer et al. 1996) zu einer Aktivierung membranständiger Oxidasen in Endothelzellen, glatten Gefäßmuskelzellen und der Adventitia (Wang et al. 1998) mit gesteigerter Superoxidanionenproduktion mit der Folge einer endothelialen Dysfunktion kommt (Taniyama et al. 2003). Dabei ist die endotheliale NO-Synthase in einem entkoppelten Zustand selbst eine wichtige Superoxidquelle (Mollnau et al. 2003, Mollnau et al. 2002). Da die Thrombozyten alle Komponenten des L-Arginin-NO-Stoffwechselweges enthalten (Radomski et al. 1990) und darüber hinaus die Existenz superoxidanionenproduzierender Oxidasen nachgewiesen werden konnte (Seno et al. 2001), lässt sich spekulieren, dass es auch in aktivierten Thrombozyten zu einer Reduktion der NO-Bioverfügbarkeit durch gesteigerte Superoxidanionenproduktion kommt. Studien von Ikeda et al. (2000) haben gezeigt, dass das Vorliegen koronarer Risikofaktoren mit der Freisetzung von NO aus Thrombozyten invers korreliert. Darüber hinaus haben Freedman et al. (1998) gezeigt, dass die im Rahmen eines akuten Koronarsyndroms aktivierten Thrombozyten eine verminderte NO-Produktion aufweisen. Es häufen sich Hinweise dafür, dass es auch in Thrombozyten zu einer Entkopplung der thrombozytären NO-Synthase mit konsekutiver Superoxidanionenbildung kommt. Kanaya et al. (2001) konnten in einem Hundemodell zeigen, dass zyklische Blutflussvariation zu einer Depletion des NO-Synthase Kofaktors Tetrahydrobiopterin mit gesteigerter Nitrotyrosinbildung, verminderter cGMP-Bildung und gesteigerter Thrombozytenaggregation führt, und dass diese Veränderungen durch die exogene Zufuhr von Tetrahydrobiopterin reversibel sind. Dabei ist die gesteigerte Nitrotyrosinbildung ein Marker für eine Peroxynitritbildung, das aus der Reaktion von NO mit Superoxidanionen entsteht, und die verminderte cGMP-Bildung ein Marker für die daraus resultierende NO-Produktion (Moro et al. 1996).

Zusammengenommen sind diese Befunde vereinbar mit einer Entkopplung der thrombozytären NO-Synthase in einem Modell der zyklischen Blutflussvariation. Kürzlich konnten Dixon et al. (2003) bei Patienten mit Herzinsuffizienz zeigen, dass eine entkoppelte thrombozytäre NO-Synthase zu der gesteigerten Superoxidanionenproduktion bei Herzinsuffizienz beiträgt. Interessanterweise hatten die Patienten, bei denen eine NOS-Entkopplung nachgewiesen werden konnte, eine schlechtere Endothelfunktion als die Patienten mit Herzinsuffizienz, bei denen keine NOS-Entkopplung nachweisbar war. Man könnte daher spekulieren, dass möglicherweise eine gesteigerte Superoxidanionenbildung z.B. durch eine Entkopplung der thrombozytären NO-Synthase zu einer Reduktion der endothelialen NO-Bioverfügbarkeit und damit Verschlechterung der Endothelfunktion führt. Mit der Zirkulation der Thrombozyten im Blutfluss wäre auch eine Erklärungsmöglichkeit gegeben für die Frage, warum Änderungen der Endothelfunktion weit entfernt von der Lokalisation der Koronarintervention messbar sind.

4.3. Pharmakodynamisches Monitoring durch den Plättchenadhäsionsassay (PADA)

In der vorliegenden Arbeit wurde der von der Firma HaemoSys Ltd., Jena entwickelte in-vitro Plättchenadhäsionsassay (PADA) zum Monitoring der Wirkung von Tirofiban verwendet. Das Neuartige dieses Assays ist, dass der Assay das Ausmaß der Plättchenadhäsion an probeneigenes Fibrinogen lediglich durch definierte mechanische Stimulation ohne exogene Zugabe von Agonisten misst. Voruntersuchungen haben eine gute Reproduzierbarkeit ergeben und gezeigt, dass Patienten mit einem akuten Koronarsyndrom eine höhere Plättchenadhäsivität aufweisen, während sich die Plättchenadhäsivität bei Patienten mit stabiler koronarer Herzkrankheit von der Population ohne Koronarerkrankung nicht unterscheidet. Die Bolusinjektion mit Tirofiban hat zu einer signifikanten Reduktion der Plättchenadhäsivität geführt. Die Untersuchungen der

vorliegenden Arbeit haben jedoch keine Korrelation zwischen der Änderung der Plättchenadhäsivität mit den Änderungen der flussabhängigen Dilatation ergeben, so dass eine Bedeutung der Plättchenadhäsivität für die Thrombozyten-Endothelinteraktion wenig wahrscheinlich ist.

4.4. Limitationen der Studie

Die Verteilung der Patienten auf beide Untersuchungsgruppen basierte nicht auf Randomisation, sondern geschah nach Entscheidung des von der Studie unabhängigen Herzkatheterarztes den gpIIb/IIIa Rezeptorantagonisten einzusetzen. Es kann daher nicht ausgeschlossen werden, dass sich aus dieser Art der Verteilung der Patienten auf die Untersuchungsgruppen eine ungleiche Verteilung von Faktoren ergeben hat, die einen Einfluss auf das Studienergebnis genommen haben könnte. Jedoch hat die Analyse der klinischen und sonographischen Ausgangsparameter eine gleichmäßige Verteilung der bekannten Einflussfaktoren ergeben. Außerdem kann über den Zeitverlauf der Entwicklung und Dauer der endothelialen Dysfunktion nach perkutaner Koronarintervention bzw. die Dauer der Verbesserung der endothelialen Dysfunktion nach Gabe des gpIIb/IIIa-Rezeptorantagonisten keine Aussage gemacht werden, da nur an einem Messzeitpunkt untersucht wurde. Da heute jedoch bei fast allen Patienten im Rahmen der perkutanen Koronarintervention ein Stent implantiert wird und diese Stentimplantation heutzutage unmittelbar im Anschluss den Beginn einer Clopidogreltherapie erfordert, die möglicherweise ebenfalls einen Einfluss auf die Endothelfunktion haben könnte, erscheint die Untersuchung des Zeitverlaufs nach Koronarintervention nicht aussagekräftig zu sein.

4.5. Schlussfolgerung

Die vorliegende Arbeit beschreibt erstmals, dass eine gpIIb/IIIa-Rezeptorblockade bei perkutaner Koronarintervention zu einer

Verbesserung der Endothelfunktion peripherer Leitungsarterien führt. Dieser Effekt trägt möglicherweise zu dem Vorteil einer gpIIb/IIIa-Rezeptorblockade für die Prognose von Patienten nach perkutaner Koronarintervention bei. Weiterführende Studien müssen klären, welche molekularen Mechanismen diesem Einfluss aktivierter Thrombozyten auf die Endothelfunktion zugrunde liegen. Dabei sollte insbesondere der Einfluss einer gpIIb/IIIa-Rezeptorblockade auf die Aktivität verschiedener superoxidanionenbildender Enzymsysteme und auf die Bedeutung der Thrombozyten-(Leukozyten)-Endothelzellinteraktionen untersucht werden.

5. Zusammenfassung

Klinische Studien haben gezeigt, dass die Inhibition des Glykoprotein IIb/IIIa Rezeptors eine Verbesserung der Prognose nach Durchführung einer perkutanen Koronarintervention (PTCA) bei Patienten mit hohem Risiko bewirkt. Es wird angenommen, dass diese Wirkung durch eine Verhinderung der Thrombozytenaktivierung und der Interaktion zwischen Thrombozyten und Leukozyten resultiert. Neuere Studien haben gezeigt, dass die Behandlung mit den gpIIb/IIIa Rezeptorantagonisten Tirofiban und Eptifibatide bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit die Endothelfunktion in Widerstandsgefäßen des Unterarms verbessern. Das Ziel dieser Arbeit war es, den Effekt einer Behandlung mit dem gpIIb/IIIa Rezeptorantagonist Tirofiban auf die Endothelfunktion arterieller Leitungsgefäße bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit nach PTCA zu untersuchen. Die Endothelfunktion der Patienten wurde durch die sonographische Messung der flussabhängigen Dilatation der Arteria brachialis (FMD) bestimmt. Der Effekt der gpIIb/IIIa Rezeptorblockade durch Tirofiban wurde mit einem neuen Plättchenadhäsionsassay (PADA) gemessen. Es wurden 66 Patienten mit einer Koronaren Herzkrankheit und vorliegender Indikation für eine PTCA in die Studie eingeschlossen. Bei 33 Patienten wurde während der PTCA eine Bolusinjektion Tirofiban (10 µg/ kg KG) i.v. gegeben, bei 33 Patienten wurde eine PTCA ohne Gabe von Tirofiban durchgeführt. Die FMD und der

Plättchenadhäsionsindex (AI) wurden kurz vor der PTCA und innerhalb von 30 Minuten nach PTCA gemessen. Tirofiban führte zu einer signifikanten Verbesserung der FMD (vor $6,0 \pm 0,4\%$, nach $7,8 \pm 0,5\%$, $p < 0,0001$), während die FMD bei Patienten ohne Tirofibanbehandlung nach der PTCA signifikant schlechter war (vor $6,1 \pm 0,6\%$, nach $4,7 \pm 0,7\%$, $p < 0,006$). Tirofibangabe führte zu einer signifikanten Reduktion des AI (vor $54 \pm 5\%$, nach $17 \pm 2\%$, $p < 0,0001$), während sich nach PTCA ohne Tirofiban keine Änderung ergab (vor $48 \pm 6\%$, nach $46 \pm 5\%$). Im Gegensatz zu der PTCA hatte die Durchführung einer diagnostischen Koronarangiographie keinen Einfluss auf die FMD (vor $5,4 \pm 0,8\%$, nach $5,3 \pm 0,9\%$). Die vorliegende Arbeit zeigt eine Verbesserung der Endothelfunktion in arteriellen Leitungsgefäßen durch eine gpIIb/IIIa Rezeptorblockade bei Patienten nach perkutaner Koronarintervention. Diese Effekte einer gpIIb/IIIa Rezeptorblockade auf die Endothelfunktion tragen möglicherweise zu dem klinischen Vorteil einer gpIIb/IIIa Rezeptorblockade nach perkutaner Koronarintervention bei.

6. Verzeichnis der Abkürzungen

ACE- I:	Angiotensin converting enzyme Inhibitor
ADP:	Adenosindiphosphat
AI:	Adhäsionsindex
AKS:	Akutes Koronarsyndrom
ATL :	Advanced Technology Laboratories
BMI :	Body-Maß-Index
CFX:	Ramus circumflexus
CRP:	c-reaktives Protein
DKA:	Diagnostische Koronarangiographie
FMD:	Flussabhängige Dilatation (engl.: Flow Mediated Dilation)
gpIIb/IIIa:	Glykoprotein alphaIIb/betaIII
H ₀ :	Nullhypothese
H ₁ :	Alternativhypothese
HDI:	high definition imaging
HDL:	engl.: high density lipoprotein
IE:	internationale Einheit
i.v.:	intravenös
kg:	Kilogramm
KHK:	Koronare Herzkrankheit
KTR:	Kontrollgruppe
LDL:	engl.: low density lipoprotein
mm:	Millimeter
mmHg:	Millimeter Quecksilbersäule
N ^G -L-nitro arginine:	N-Glutaryl-L-Nitroarginin
NMD:	Nitroglyzerin-induzierte Dilatation (engl.: Nitroglycerin Mediated Dilation)
NO:	Stickstoffmonoxid (engl.: Nitric Oxide)
n.s.:	nicht signifikant
PADA:	Plättchenadhäsionsassay
PTCA:	Perkutane Koronarintervention (engl.: percutaneous transluminal coronary angioplasty)

PROCAM :	Prospective cardiovascular Münster study
RIVA:	Ramus interventricularis anterior
RR:	Blutdruck nach Riva-Rocci
SEM:	Standardfehler (engl.: standard error of the mean)
s.l.:	sublingual
TIR:	Tirofibangruppe
UKE:	Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

7. Literatur

- Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD, Meredith IT, Knab S, Delagrangé D, Lieberman EH, Ganz P, Creager MA, Yeung AC, et al. (1995) Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol*, 26: 1235-41.
- Assmann G, Cullen P, Schulte H (2002) Simple scoring scheme for calculating the risk of acute coronary events based on the 10-year follow-up of the prospective cardiovascular Munster (PROCAM) study. *Circulation*, 105: 310-5.
- Aymong ED, Curtis MJ, Youssef M, Graham MM, Shewchuk L, Leschuk W, Anderson TJ (2002) Abciximab attenuates coronary microvascular endothelial dysfunction after coronary stenting. *Circulation*, 105: 2981-5.
- Boersma E, Akkerhuis KM, Theroux P, Califf RM, Topol EJ, Simoons ML (1999) Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor inhibition in non-ST-elevation acute coronary syndromes: early benefit during medical treatment only, with additional protection during percutaneous coronary intervention. *Circulation*, 100: 2045-8.
- Caramori PR, Lima VC, Seidelin PH, Newton GE, Parker JD, Adelman AG (1999) Long-term endothelial dysfunction after coronary artery stenting. *J Am Coll Cardiol*, 34: 1675-9.
- Corretti MC, Plotnick GD, Vogel RA (1995) Correlation of cold pressor and flow-mediated brachial artery diameter responses with the presence of coronary artery disease. *Am J Cardiol*, 75: 783-7.
- Corretti MC, Plotnick GD, Vogel RA (1995) Technical aspects of evaluating brachial artery vasodilatation using high-frequency ultrasound. *Am J Physiol*, 268: H1397-404.
- Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, Deanfield J, Drexler H, Gerhard-Herman M, Herrington D, Vallance P, Vita J, Vogel R (2002) Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of

- the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol*, 39: 257-65.
- Dixon LJ, Morgan DR, Hughes SM, McGrath LT, El-Sherbeeney NA, Plumb RD, Devine A, Leahey W, Johnston GD, McVeigh GE (2003) Functional consequences of endothelial nitric oxide synthase uncoupling in congestive cardiac failure. *Circulation*, 107: 1725-8.
- Duffy SJ, Keaney JF, Jr., Holbrook M, Gokce N, Swerdloff PL, Frei B, Vita JA (2001) Short- and long-term black tea consumption reverses endothelial dysfunction in patients with coronary artery disease. *Circulation*, 104: 151-6.
- el-Tamimi H, Davies GJ, Crea F, Maseri A (1993) Response of human coronary arteries to acetylcholine after injury by coronary angioplasty. *J Am Coll Cardiol*, 21: 1152-7.
- Freedman JE, Ting B, Hankin B, Loscalzo J, Keaney JF, Jr., Vita JA (1998) Impaired platelet production of nitric oxide predicts presence of acute coronary syndromes. *Circulation*, 98: 1481-6.
- George J, Aron A, Levy Y, Gilburd B, Ben-David A, Renaudineau Y, Zonana-Nachach A, Youinou P, Harats D, Shoenfeld Y (1999) Anti-cardiolipin, anti-endothelial-cell and anti-malondialdehyde-LDL antibodies in uremic patients undergoing hemodialysis: relationship with vascular access thrombosis and thromboembolic events. *Hum Antibodies*, 9: 125-31.
- Germano G, Sanguigni V, Pignatelli P, Caccese D, Lenti L, Ragazzo M, Lauro R, Violi F (2004) Enhanced platelet release of superoxide anion in systemic hypertension: role of AT1 receptors. *J Hypertens*, 22: 1151-56.
- Harrison DG (1994) Endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Basic Res Cardiol*, 89 Suppl 1: 87-102.
- Heitzer T, Just H, Munzel T (1996) Antioxidant vitamin C improves endothelial dysfunction in chronic smokers. *Circulation*, 94: 6-9.
- Heitzer T, Ollmann I, Koke K, Meinertz T, Munzel T (2003) Platelet Glycoprotein IIb/IIIa Receptor Blockade Improves Vascular Nitric

Oxide Bioavailability in Patients With Coronary Artery Disease. *Circulation*.

- Hink U, Li H, Mollnau H, Oelze M, Matheis E, Hartmann M, Skatchkov M, Thaiss F, Stahl RA, Warnholtz A, Meinertz T, Griendling K, Harrison DG, Forstermann U, Munzel T (2001) Mechanisms underlying endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *Circ Res*, 88: E14-22.
- Ikeda H, Takajo Y, Murohara T, Ichiki K, Adachi H, Haramaki N, Katoh A, Imaizumi T (2000) Platelet-derived nitric oxide and coronary risk factors. *Hypertension*, 35: 904-7.
- Inoue T, Uchida T, Yaguchi I, Sakai Y, Takayanagi K, Morooka S (2003) Stent-induced expression and activation of the leukocyte integrin Mac-1 is associated with neointimal thickening and restenosis. *Circulation*, 107: 1757-63.
- Jacobson GM, Dourron HM, Liu J, Carretero OA, Reddy DJ, Andrzejewski T, Pagano PJ (2003) Novel NAD(P)H oxidase inhibitor suppresses angioplasty-induced superoxide and neointimal hyperplasia of rat carotid artery. *Circ Res*, 92: 637-43.
- Kanaya S, Ikeda H, Haramaki N, Murohara T, Imaizumi T (2001) Intraplatelet tetrahydrobiopterin plays an important role in regulating canine coronary arterial thrombosis by modulating intraplatelet nitric oxide and superoxide generation. *Circulation*, 104: 2478-84.
- Karvouni E, Katritsis DG, Ioannidis JP (2003) Intravenous glycoprotein IIb/IIIa receptor antagonists reduce mortality after percutaneous coronary interventions. *J Am Coll Cardiol*, 41: 26-32.
- Kaul S, Waack BJ, Padgett RC, Brooks RM, Heistad DD (1993) Altered vascular responses to platelets from hypercholesterolemic humans. *Circ Res*, 72: 737-43.
- Kaul S, Waack BJ, Padgett RC, Brooks RM, Heistad DD (1994) Interaction of human platelets and leukocytes in modulation of vascular tone. *Am J Physiol*, 266: H1706-14.
- Levine GN, Frei B, Koulouris SN, Gerhard MD, Keaney JF, Jr., Vita JA (1996) Ascorbic acid reverses endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. *Circulation*, 93: 1107-13.

- Mancini GB, Yeoh E, Abbott D, Chan S (2002) Validation of an automated method for assessing brachial artery endothelial dysfunction. *Can J Cardiol*, 18: 259-62.
- Merhi Y, Provost P, Guidoin R, Latour JG (1997) Importance of platelets in neutrophil adhesion and vasoconstriction after deep carotid arterial injury by angioplasty in pigs. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 17: 1185-91.
- Merhi Y, Provost P, Chauvet P, Theoret JF, Phillips ML, Latour JG (1999) Selectin blockade reduces neutrophil interaction with platelets at the site of deep arterial injury by angioplasty in pigs. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 19: 372-7.
- Mollnau H, Wendt M, Szocs K, Lassegue B, Schulz E, Oelze M, Li H, Bodenschatz M, August M, Kleschyov AL, Tsilimingas N, Walter U, Forstermann U, Meinertz T, Griendling K, Munzel T (2002) Effects of angiotensin II infusion on the expression and function of NAD(P)H oxidase and components of nitric oxide/cGMP signaling. *Circ Res*, 90: E58-65.
- Mollnau H, Schulz E, Daiber A, Baldus S, Oelze M, August M, Wendt M, Walter U, Geiger C, Agrawal R, Kleschyov AL, Meinertz T, Munzel T (2003) Nebivolol prevents vascular NOS III uncoupling in experimental hyperlipidemia and inhibits NADPH oxidase activity in inflammatory cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 23: 615-21.
- Moro MA, Russel RJ, Celtek S, Lizasoain I, Su Y, Darley-Usmar VM, Radomski MW, Moncada S (1996) cGMP mediates the vascular and platelet actions of nitric oxide: confirmation using an inhibitor of the soluble guanylyl cyclase. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 93: 1480-5.
- Neumann FJ, Ott I, Gawaz M, Puchner G, Schomig A (1996) Neutrophil and platelet activation at balloon-injured coronary artery plaque in patients undergoing angioplasty. *J Am Coll Cardiol*, 27: 819-24.
- Oskarsson HJ, Hofmeyer TG (1997) Diabetic human platelets release a substance that inhibits platelet-mediated vasodilation. *Am J Physiol*, 273: H371-9.

- Radomski MW, Palmer RM, Moncada S (1990) An L-arginine/nitric oxide pathway present in human platelets regulates aggregation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 87: 5193-7.
- Seno T, Inoue N, Gao D, Okuda M, Sumi Y, Matsui K, Yamada S, Hirata KI, Kawashima S, Tawa R, Imajoh-Ohmi S, Sakurai H, Yokoyama M (2001) Involvement of NADH/NADPH oxidase in human platelet ROS production. *Thromb Res*, 103: 399-409.
- Serrano CV, Jr., Ramires JA, Venturinelli M, Arie S, D'Amico E, Zweier JL, Pileggi F, da Luz PL (1997) Coronary angioplasty results in leukocyte and platelet activation with adhesion molecule expression. Evidence of inflammatory responses in coronary angioplasty. *J Am Coll Cardiol*, 29: 1276-83.
- Smith SC, Jr., Dove JT, Jacobs AK, Kennedy JW, Kereiakes D, Kern MJ, Kuntz RE, Popma JJ, Schaff HV, Williams DO, Gibbons RJ, Alpert JP, Eagle KA, Faxon DP, Fuster V, Gardner TJ, Gregoratos G, Russell RO (2001) ACC/AHA guidelines for percutaneous coronary intervention (revision of the 1993 PTCA guidelines)-executive summary: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association task force on practice guidelines (Committee to revise the 1993 guidelines for percutaneous transluminal coronary angioplasty) endorsed by the Society for Cardiac Angiography and Interventions. *Circulation*, 103: 3019-41.
- Sorensen KE, Celermajer DS, Spiegelhalter DJ, Georgakopoulos D, Robinson J, Thomas O, Deanfield JE (1995) Non-invasive measurement of human endothelium dependent arterial responses: accuracy and reproducibility. *Br Heart J*, 74: 247-53.
- Takase B, Uehata A, Akima T, Nagai T, Nishioka T, Hamabe A, Satomura K, Ohsuzu F, Kurita A (1998) Endothelium-dependent flow-mediated vasodilation in coronary and brachial arteries in suspected coronary artery disease. *Am J Cardiol*, 82: 1535-9, A7-8.
- Taniyama Y, Griendling KK (2003) Reactive oxygen species in the vasculature: molecular and cellular mechanisms. *Hypertension*, 42: 1075-81.

- The CAPTURE Investigators (1997) Randomised placebo-controlled trial of abciximab before and during coronary intervention in refractory unstable angina: the CAPTURE Study. *Lancet*, 349: 1429-35.
- The EPILOG Investigators (1997) Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor blockade and low-dose heparin during percutaneous coronary revascularization. The EPILOG Investigators. *N Engl J Med*, 336: 1689-96.
- The EPISTENT Investigators (1998) Randomised placebo-controlled and balloon-angioplasty-controlled trial to assess safety of coronary stenting with use of platelet glycoprotein-IIb/IIIa blockade. The EPISTENT Investigators. Evaluation of Platelet IIb/IIIa Inhibitor for Stenting. *Lancet*, 352: 87-92.
- The ESPRIT Investigators (2000) Novel dosing regimen of eptifibatid in planned coronary stent implantation (ESPRIT): a randomised, placebo-controlled trial. *Lancet*, 356: 2037-44.
- Wang HD, Pagano PJ, Du Y, Cayatte AJ, Quinn MT, Brecher P, Cohen RA (1998) Superoxide anion from the adventitia of the rat thoracic aorta inactivates nitric oxide. *Circ Res*, 82: 810-8.
- Warnholtz A, Nickenig G, Schulz E, Macharzina R, Brasen JH, Skatchkov M, Heitzer T, Stasch JP, Griendling KK, Harrison DG, Bohm M, Meinertz T, Munzel T (1999) Increased NADH-oxidase-mediated superoxide production in the early stages of atherosclerosis: evidence for involvement of the renin-angiotensin system. *Circulation*, 99: 2027-33.
- Warnholtz A, Mollnau H, Oelze M, Wendt M, Munzel T (2001) Antioxidants and endothelial dysfunction in hyperlipidemia. *Curr Hypertens Rep*, 3: 53-60.

8. Danksagung

Mein größter Dank geht an Herrn Prof. Dr. T. Münzel, der als mein Doktorvater mit großer Unterstützung das Entstehen dieser Arbeit vorangebracht hat.

Mein besonders herzlicher Dank gilt auch Herrn Dr. A. Warnholtz für seine unglaublich geduldige Unterstützung bei allen Problemen. Ohne seine Hilfe hätte ich meine Doktorarbeit nie fertigstellen können.

Herrn PD Dr. T. Heitzer danke ich für seine Bemühungen, die er für diese Arbeit aufgewendet hat.

Frau S. Eggeling möchte ich für ihre fleißige Mitarbeit danken.

Meinen Eltern danke ich ganz herzlich für ihre große moralische Unterstützung, die mir immer Kraft gegeben hat.

Und ein großes Dankeschön an meine fantastische Ehefrau, Diana, die für mich immer da ist.

Schließlich ein herzliches Dankeschön an Herrn Prof. Dr. T. Meinertz für seinen wertvollen Rat und Hilfe und Menschlichkeit, die für mich ein wichtiger Grund zur Immigration war.

Mir Abolfazl Ostad

9. Erklärung

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 Werks kenntlich gemacht habe, und dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Hamburg, den

Mir Abolfazl Ostad

10. Lebenslauf

Persönliche Daten:

- Name: Mir Abolfazl Ostad
- Adresse: Hinrichsen Straße 17a, 20535 Hamburg
- Geburtsdatum: 21.09.1971
- Geburtsort: Teheran – Iran
- Familienstand: Verheiratet

Schulbildung und Praktika:

- Grundschule: Beheshti Schule Teheran 1978 -1983
- Gymnasium: Roshd Intelligence Gymnasium
Teheran 1984 -1989
- Abitur (Note 18,75 von 20) Juli 1989

Studium:

- Beginn des Medizinstudiums September 1989
- Physikum 1991
- 1.Staatsexamen 1992
- 2.Staatsexamen(Pre-internship) 1996
- Praktisches Jahr 17 Monate: Innere Medizin(4), Chirurgie(2),
Kinderheilkunde(3), Orthopädie(1), Urologie(1), Radiologie(1),
Dermatologie(1), HNO(1), Arbeitsmedizin und Hygiene(1),
Neurologie(1),Neurochirurgie(1)
1996-1997
- Erhalt des Diploms mit der Gesamtnote 15,19 von 20 und mit der
Gesamtnote 17,46 von 20 für Praktikum
August 1997

Berufliche Erfahrungen:

- Ableistung des Pflichtdienstes für die Dauer von 2 Jahren als Arzt bei der Polizei in Hamedan-Razan
1997-1999
- Schularzt in Teheran
1999-2000
- Klinikarzt in Bonyad– Shahid in Teheran
2000-2001
- Medizinische Software Programm Weiterbildung in Teb & Rayaneh Co. In Teheran
2001
- Hospitation und Beschäftigung als Gastarzt in der Medizinischen Klinik III, Kardiologie und Angiologie, Zentrum für Innere Medizin, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE), Hamburg
2001-2002
- Wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Medizinischen Klinik III, Kardiologie und Angiologie, Zentrum für Innere Medizin, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE), Hamburg seit
10.01.2003