

Aus der Klinik für Kardiologie des Universitären Herzzentrums des  
Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf  
Direktor: Professor Dr. Meinertz

Der Platelet Adhesion Assay  
-Eine klinische Evaluation-

## Dissertation

Zur Erlangung eines medizinischen Doktorgrades  
Dem Fachbereich der Medizin der Universität Hamburg vorgelegt von

Till Rasmus Burkhardt

Aus Tangstedt

Hamburg 2009

Angenommen von der Medizinischen Fakultät

der Universität Hamburg am: 20.09.10

Veröffentlicht mit Genehmigung der Medizinischen

Fakultät der Universität Hamburg

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof Dr. T. Meinertz

Prüfungsausschuss: 2. Gutachter/in: PD Dr. K. Sydow

Prüfungsausschuss: 3. Gutachter/in: Prof Dr. J. Fiehler

für Goggo

„Wir sind ja nicht zum Spaß hier!“

-Martin Husmann-

## Inhaltsverzeichnis:

1. Einleitung	1
1.1.1 Koronare Herzkrankheit	1
1.1.2 Akutes Koronarsyndrom und Herzinfarkt	2
1.1.3 Risikofaktoren	3
1.1.4 Pathophysiologie	3
1.1.5 Therapie	4
1.1.6 Stentthrombosen	5
1.2 Thrombozyten	6
1.2.1 Entstehung und Aufbau	6
1.2.2 Sekretorische Funktion	8
1.2.3 Physiologie der Thrombozytenaktivierung	9
1.3 Physiologie und Pathophysiologie der Blutgerinnung	12
1.3.1 Hämostase	12
1.4 Hemmung der Thrombozyten	13
1.4.1 Acetylsalicylsäure	13
1.4.2 Clopidogrel und Ticlopidin	14
1.4.3 GPIIb-IIIa Antagonisten	15
1.5 Fragestellung	16
2. Material und Methoden	17
2.1 Plättchenadhesionsassay	17
2.1.1 Hintergrund des Plättchenadhäsionsassays	17
2.1.2 Prinzip der Methode	18
2.1.3 Durchführung	19
2.2 Statistische Auswertung	21
2.3 Patientenkollektiv	21
3. Ergebnisse	22
3.1 PADA bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom ohne vorherige Medikation	23
3.2 PADA bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom nach vorheriger Medikation	24
3.3 PADA bei Patienten mit Stentthrombose nach vorheriger Medikation	25
3.4 PADA unter Therapie mit Tirofiban	27
3.5 PADA unter Therapie mit Abciximab	28
3.6 Kontrolluntersuchungen	29

4. Diskussion	31
4.1 PADA bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom ohne vorherige Medikation	32
4.2 PADA bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom nach vorheriger Medikation	33
4.3 PADA bei Patienten mit Stentthrombose nach vorheriger Medikation	34
4.4 PADA unter Therapie mit Tirofiban	35
4.5 PADA unter Therapie mit Abciximab	36
4.6 Kontrolluntersuchungen	37
4.7 Zur aktuellen Diskussion der Clopidogrelresistenz	38
4.8 Fehlerquellen und Kritikpunkte	40
5. Zusammenfassung	42
6. Quellen	43
7. Abkürzungsverzeichnis	50
8. Danksagungen	52
9. Lebenslauf	53
10. Eidesstattliche Versicherung	54

## **1. Einleitung**

### **1.1.1 Koronare Herzkrankheit**

Die koronare Herzkrankheit (KHK) ist die Manifestation der Atherosklerose an den Herzkranzgefäßen (*Nationale Versorgungsleitlinie* 2006) und ist laut einer Veröffentlichung der WHO aus dem Jahre 2008 die weltweit häufigste Todesursache (*Global burden of disease, WHO update* 2008). Die chronisch-ischämische Herzkrankheit und der akute Myokardinfarkt führen die Todesursachenstatistik in Deutschland mit 10,9% und 7,5% der registrierten Fälle an (*Nationale Versorgungsleitlinie* 2008). Klinisch in Erscheinung kann die KHK in allen Stadien als Angina pectoris (AP) und im fortgeschrittenen Stadium als Herzinfarkt auftreten. Typische Symptome sind der Brustschmerz, Atemnot und Kaltschweißigkeit (*DeVon* 2002). Die Angina pectoris wird in stabile und instabile AP eingeteilt. Während die stabile AP wiederholt durch körperliche Anstrengung auslösbar ist und stets auf die Gabe von Nitraten anspricht (*Jawad* 2008), wird als instabile AP jede Erstangina und weiterhin jede an Schwere und Dauer zunehmende Angina, die Ruheangina und der zunehmende Bedarf an antianginösen Medikamenten bezeichnet (*Hamm* 1988).

### **1.1.2 Akutes Koronarsyndrom und Herzinfarkt**

Als Akutes Koronarsyndrom (ACS) werden die bereits erwähnte instabile AP, der „non st-elevation myocardial infarction“ (NSTEMI) und der „st-elevation myocardial infarction (STEMI) zusammengefasst (Hunziker 2003). Laut WHO liegt ein Infarkt dann vor, wenn bei instabiler AP Marker einer Myokardschädigung (Troponin T/I und CK-MB) nachweisbar sind (Alpert 2008, White 2008). Die Inzidenz für den Herzinfarkt liegt in Deutschland bei ca. 300/100.000. 1997 starben in Deutschland 82.000 Menschen an einem Herzinfarkt (Statistisches Bundesamt).

Das klinische Erscheinungsbild ist ähnlich der AP, lässt sich diese jedoch meist durch körperliche Ruhe und antianginöse Therapie durchbrechen, so ist der Herzinfarkt typischerweise nicht „nitrosensibel“.

Laborparametrisch lassen sich erhöhte Werte für Troponin T/I und die CK-MB nachweisen (Mair 1997). Aktuellere Studien zeigen zudem einen frühen Nachweis von heart fatty acid binding protein (h-FABP) (Goldmann, Studie in Veröffentlichung).

Im Elektrokardiogramm (EKG) wird der STEMI vom NSTEMI unterschieden (Aytekin 2007). Bildgebende Verfahren die einen (abgelaufenen) Myokardinfarkt zeigen können sind die Echokardiographie, die Perfusionszintigraphie, die



Magnetresonanztomographie (MRT) und die Lävokardiographie (LV) (Yang 2003, Villanueva 2002).

### **1.1.3 Risikofaktoren**

Die Risikofaktoren für die KHK und den Herzinfarkt entsprechen einander. Die wichtigsten veränderlichen Risikofaktoren sind Hypercholesterinämie, arterieller Hypertonus (aHTN), Diabetes mellitus (DM) und Zigarettenkonsum. Hinzu kommen unveränderliche wie Lebensalter, Geschlecht und familiäre Vorgeschichte (Bansal 2007)

Weitere Risikofaktoren sind Adipositas, körperliche Inaktivität, Entzündungszustände bei KHK-Patienten, Thromboseneigung und Hyperhomocysteinämie (Trabetti 2008).

### **1.1.4 Pathophysiologie**

Durch subintimale Ansammlungen von Fett, Zelltrümmern und Zellen kommt es zur Ausbildung von Plaques, die das Gefäßlumen verengen und so zu klinisch relevanten Stenosen führen können. Die Plaques sind häufig Ausgangspunkt von Fissuren, Blutungen und Thrombosen (Dohrweiler 2007).

Während die Atherosklerose, bedingt durch die Koronarstenose zu chronischen Erscheinungen wie stabiler AP, Herzrhythmusstörungen und Kardiomyopathie führen kann, zieht eine plötzliche totale oder subtotale Okklusion eine schwere, myokardiale Ischämie mit Versagen der normalen Muskelkontraktion und -relaxation nach sich (*Toth* 2008).

### **1.1.5 Therapie**

Die Behandlung der KHK und des Akuten Koronarsyndroms erfolgt sowohl interventionell durch die perkutane transluminale koronare Angioplastie (PTCA) (*Bonzel* 2008) oder chirurgische Verfahren wie die Bypasschirurgie (*O'Rourke* 2008, *White* 2008) als auch konservativ-medikamentös (*Dietz* 2003).

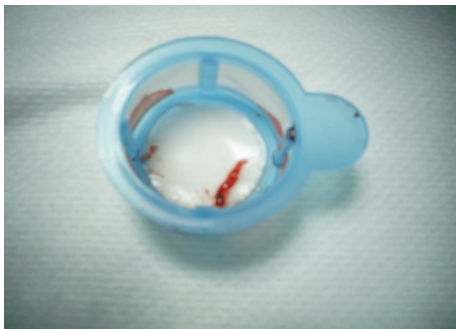
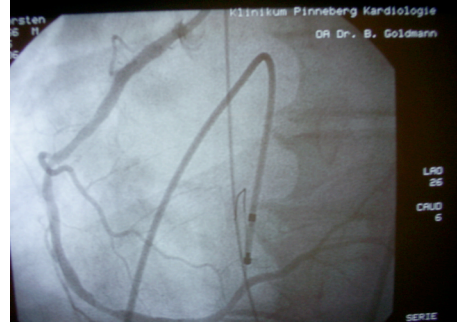
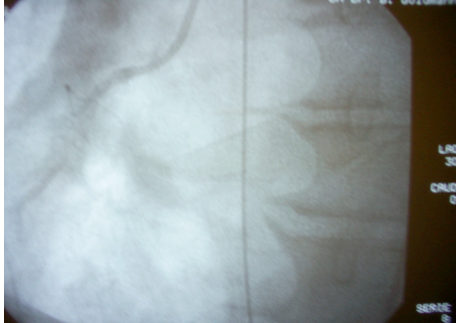
Die perkutane coronar Intervention (PCI) ist ein Verfahren zur koronaren Revaskularisierung und hat mittlerweile weite Verbreitung gefunden. Sie kann entweder als Ballondilatation alleine oder als Ballondilatation mit anschliessendem Einbringen eines Stents erfolgen. Nach einer erfolgreichen PTCA erfolgt eine medikamentöse Nachbehandlung insbesondere mit thrombozytenfunktionshemmenden Medikamenten wie Acetylsalicylsäure (ASS) und Clopidogrel (*Silber* 2008).

### **1.1.6 Stentthrombosen**

In den letzten Jahren hat die Stentthrombose, ob akut oder subakut an klinischer Bedeutung gewonnen. Insbesondere die mit antiproliferativ wirkenden Substanzen, beschichteten Stents gerieten aufgrund gehäufte Stentthrombosen in den Focus sowohl des medizinischen Interesses, als auch in den der Öffentlichkeit.

Die Stentthrombose ist definiert als Verschluss des einliegenden Stents mit am Ort entstandenem Thrombus (*Silber 2007*). Zur Prävention der Stentthrombose werden ASS und Clopidogrel in Kombination verwendet. Die neuesten Empfehlungen der deutschen Gesellschaft für Kardiologie schreiben eine 3monatige Thrombozytenaggregationshemmung mit Clopidogrel plus ASS für unbeschichtete Stents und eine einjährige Behandlung mit gleicher Kombination für beschichtete Stents vor. Nach stattgefundenener Stentthrombose wird meist eine lebenslange Antikoagulation mit beiden Medikamenten empfohlen (*Silber 2007*). Bare Metal Stents (BMS) scheinen eine höhere Rate an Restenosen (*Lüscher 2008*) aufzuweisen als Drug-eluting Stents (DES), diese haben aber eine höhere Rate an späten Stentthrombosen (*Jaffe 2007*).

*Bild 1: Stentthrombose im Bereich der rechten Coronararterie (RCA), vor und nach Intervention durch PCI. Das untere Bild zeigt den abgesaugten Thrombus.*



## 1.2 Thrombozyten

### 1.2.1 Entstehung und Aufbau

Thrombozyten entstehen im menschlichen Knochenmark aus den Megakaryozyten. Bei einer Gesamtzahl von etwa 150 000 bis 300 000/ $\mu\text{l}$  zirkulieren sie durchschnittlich sieben Tage im Blut und werden dann hauptsächlich in der Milz abgebaut.

Im inaktiven Zustand besitzen Thrombozyten eine typische diskoide

Form mit einem Durchmesser von ca. 0,7 -0,8  $\mu\text{m}$ . Die Aktivierung der Thrombozyten erfolgt unter anderem durch Adenosindiphosphat (ADP) oder Thrombin, bzw. Adhäsion und führt zu der Bildung von sogenannten Pseudopodien, wodurch es zu einer Oberflächenvergrößerung der Thrombozyten kommt (*Gawaz 2002, Siess 1989*).

Elektronenmikroskopisch zeigt sich ein Aufbau, der wie folgt eingeteilt wird (*Gawaz 2002*):

- **Periphere Zone**
- **Strukturelle Zone**
- **Membransysteme und**
- **Zone der Organellen**

In der **peripheren Zone** sind Proteinen integriert, die als Rezeptoren für Agonisten, wie z.B. das bereits erwähnte Adenosindiphosphat (ADP) und Thrombin, oder für Adhäsionsproteine (z.B. Fibrinogen) fungieren. Weiterhin stellt die periphere Zone die Substrate für die Signaltransduktion und den Arachidonsäurestoffwechsel, sowie nach Aktivierung die prokoagulatorische Aktivität in Form von Plättchenfaktor III zur Verfügung (*Gawaz 2002, Gawaz 2000*). Die strukturelle Zone besteht hauptsächlich aus dem Zytoskelett, welches aus Mikrotubuli, Aktin und anderen Strukturproteinen besteht. Dieses in der Zellmembran

verankerte System spielt eine wichtige Rolle für die Aktivierung und Formveränderung (Pseudopodienbildung, „shape change“) der Thrombozyten (*Gawaz 2002, Siess 1989*).

Die Zone der Membransysteme besteht aus dem offenen kanalikulären System, welches ein mit der Plasmamembran verbundenes Kanalsystem darstellt, das weit in das Plättcheninnere hineinreicht. Es wird bei der Plättchenaktivierung nach außen verlagert und trägt ebenfalls zur Oberflächenvergrößerung bei. Das tubuläre System ist der Hauptspeicherort für freie Kalzium-ionen, welche eine wichtige Rolle bei der Aktivierung der Thrombozyten spielen (*Gawaz 2002*).

Zu den Organellen der Plättchen zählen Mitochondrien, Glykogenspeicher und verschiedene Formen von Speichergranula (*Gawaz 2002*).

### **1.2.2 Sekretorische Funktion**

Thrombozyten beherbergen drei unterschiedliche Formen von Speichergranula. Diese lassen sich einteilen in:

- Dichtegranula („dense bodies“)
- a-Granula und
- Lysosomen

Bei Aktivierung der Zelle werden die Inhaltsstoffe dieser Granula in den Extrazellulärraum abgegeben.

Die Dichtegranula enthalten Nukleotide (ADP, ATP), Serotonin und Kalziumionen, also Stoffe, die hauptsächlich für die Aggregation von Plättchen entscheidend sind (Gawaz 2002, Siess 1989).

In den am häufigsten vorkommenden  $\alpha$ -Granula sind eine Reihe von Proteinen enthalten, welche die Adhäsion und Aggregation von Plättchen und die sekundäre Hämostase fördern. Die  $\alpha$ -Granula wirken proliferativ als Wachstumsfaktoren oder sind über zytokinähnliche Wirkung an Chemotaxis und Inflammation beteiligt (Gawaz 2002, Holt 1985). Die lysosomalen Granula enthalten, wie die Lysosomen anderer Zellen, hydrolytische Enzyme (Gawaz 2002).

### **1.2.3 Physiologie der Thrombozytenaktivierung**

Thrombozyten werden durch eine Vielzahl von Stoffen (ADP, Kollagen, Thrombin, Adrenalin, Thromboxan 9) stimuliert. Diese Stoffe werden zum Teil vom Plättchen selbst -autokrin- oder vom umliegenden Gewebe gebildet und freigesetzt (Gawaz 2002, Siess 1989, Jurk 2005).

Diese Agonisten binden an ihre jeweiligen Rezeptoren und führen über eine Signaltransduktion zur Bildung von intrazellulären Botenstoffen

(second messenger). Als sogenannte „second messenger“ arbeiten hier Inositol-1,4,5-Triphosphat (IP<sub>3</sub>), Diacylglycerol und Thromboxan, deren Konzentration bei Plättchenaktivierung erhöht wird. Es besteht eine direkte Korrelation zwischen dem Aktivierungszustand und der intrazellulären Kalziumkonzentration der Thrombozyten. Diese nimmt bei Stimulation zu (Gawaz 2002).

Mit steigendem Aktivierungsgrad kommt es zu folgenden Veränderungen an den Plättchen:

1. Es kommt zu einer Aktivierung des Fibrinogenrezeptors, so dass lösliches Fibrinogen gebunden und die Plättchenaggregation ausgelöst werden kann.
2. Die Plättchen unterlaufen einer Formveränderung und Pseudopodienbildung, was zu einer Vergrößerung der Plättchenoberfläche und verstärkter Reagibilität führt.
3. Es kommt zur Freisetzung von Arachidonsäure mit Bildung von Thromboxan.
4. Es kommt zu einer Änderung der Phospholipidorientierung in der Plasmamembran, wodurch eine Anlagerung von Gerinnungsfaktoren möglich wird.

Bei noch stärkerer Aktivierung kommt es zur Freisetzung von gespeicherten Plättchensubstanzen, was als Sekretion beziehungsweise Degranulation bezeichnet wird. Dadurch kommt es zu einer hohen lokalen



Konzentration dieser Stoffe an Orten mit verstärkter Plättchenaktivierung. Zuerst werden die Substanzen der Dichtegranula freigesetzt, dann die der alpha-Granula und zuletzt die lysosomalen Enzyme (Gawaz 2002, Siess 1989).

Die Inhaltsstoffe der Dichtegranula haben Einfluss auf die Plättchenaggregation und vor allem die Vasokonstriktion und fördern somit im Bereich von Gefäßverkalkungen die Bildung eines Plättchenthrombus (Gawaz 2002, Siess 1989, Gladding 2008). Alpha-Granula setzen Substanzen frei, die außer einer Wirkung auf die Plättchenadhäsion und -aggregation auch Einfluß auf Umbauvorgänge im Bereich der Gefäßwand haben (Hawiger 1995).

Wachstumsfaktoren, wie platelet derived growth factor (PDGF) oder transforming growth factor-beta (TGF-beta) fördern die Proliferation von Fibroblasten und glatten Muskelzellen. Zytokinähnliche Substanzen, wie beta-Thromboglobulin und Plättchenfaktor 4 bewirken die Chemotaxis von Leukozyten und Fibroblasten. Interleukin-1 (Hawrylowicz 1991, Sedlmayer 1995) und CD40-Ligand, in Plättchen nachgewiesen und dort vermutlich in den alpha-Granula lokalisiert (Sedlmayer 1995), verändern die adhäsiven und chemotaktischen Eigenschaften des Endothels. Eine verstärkte endotheliale chemotaktische Aktivität stellt einen frühen

Schritt der Atherogenese dar (Hawrylowicz 1991, Gawaz 2000, Gawaz 1998).

### **1.3. Physiologie und Pathophysiologie der Blutgerinnung**

#### **1.3.1 Hämostase**

Blutgerinnung und anschließende Fibrinolyse laufen in geringem Ausmaß ständig nebeneinander ab und stehen in einem dynamischen Gleichgewicht. Die Hämostase geschieht dabei in mehreren Phasen:

1. Vaskuläre Phase mit Verengung von Arterien und Arteriolen, unterstützt durch die Freisetzung vasokonstriktorischer Substanzen wie Katecholaminen, Serotonin und Thromboxan A<sub>2</sub> aus Gefäßwand und Thrombozyten.
2. Zelluläre Blutstillung mit Adhäsion von Thrombozyten unter Ausbildung der Pseudopodien und anschließender Ausschüttung verschiedener Substanzen wie ADP, Thromboxan A<sub>2</sub>, Plättchenaktivierender Faktor, Serotonin, Katecholamine, Plättchenfaktor 4 und  $\beta$ -Thromboglobulin.
3. Plasmatische Blutgerinnung unter Beteiligung der 15 Gerinnungsfaktoren, die stufenweise nach Auslösung der Gerinnung

aktiviert werden und im Endeffekt zu einer Umwandlung von löslichem Fibrinogen in eine unlösliche Faserform, Fibrin führen (*Riess 2002*).

Thrombozyten spielen eine Hauptrolle bei der Entstehung atherothrombotischer Ereignisse wie dem Herzinfarkt. Dieses konnte bereits in mehreren Studien nachgewiesen werden (u.a. *Barsky 2006*).

## **1.4 Hemmung der Thrombozyten**

### **1.4.1 Acetylsalicylsäure**

Acetylsalicylsäure hemmt durch irreversible Acetylierung die Synthese von Prostaglandin durch die Cyclooxygenase 1 und 2 (COX 1 und 2) und damit die Entstehung von Thromboxan A<sub>2</sub> in den Thrombozyten. Zwar wird auch die Bildung anderer Prostaglandinderivate, die zum Teil antithrombotische Effekte besitzen gehemmt, da die Thrombozyten im Gegensatz zu den Zellen der Gefäßwand nicht fähig sind Proteinbiosynthese, und somit die Neubildung der COX zu betreiben überwiegt aber der antithrombotische Effekt (*Jneid 2003*). Acetylsalicylsäure wird insbesondere zur Sekundärprophylaxe kardiovaskulärer und zerebrovaskulärer Ereignisse genutzt.

### **1.4.2 Clopidogrel und Ticlopidin**

Da die Plättchenaggregation zum Teil ADP-Rezeptor vermittelt abläuft, ergibt sich hier ein Ansatz für eine medikamentöse Therapie. Clopidogrel und Ticlopidin hemmen einen oberflächenständigen ADP-Rezeptor der Thrombozyten nach Metabolisierung in ihre aktive Form durch das Cytochrom P-450. Durch die Hemmung des ADP-Rezeptors wird das „shape-change“ und Ausbildung der Pseudopodien verhindert und sowohl die primäre als auch die sekundäre ADP-bedingte Plättchenaggregation, die ADP-bedingte Sekretion von Plättcheninhaltsstoffen und die Bildung von Thromboxan A<sub>2</sub> gehemmt. (*Jneid 2003, Gladding 2008*).

Für Clopidogrel ergibt sich die Indikation aus den Ergebnissen der CAPRIE-Studie (clopidogrel vs aspirin in patients at risk of ischaemic events), in der bei mehr als 19.000 Patienten die Wirksamkeit einer Dosis von 75mg/d Clopidogrel mit der von 325mg/d ASS verglichen wurde. Die Studie zeigte, dass die Behandlung mit Clopidogrel zu einer relativen Risikoreduktion der Folgeereignisse Schlaganfall, Herzinfarkt oder vaskulärer Tod von 8,7% gegenüber ASS führte.

### **1.4.3 GPIIb-IIIa Antagonisten**

GPIIb-IIIa-Rezeptoren funktionieren als Fibrinogenrezeptoren, die die Thrombozytenaggregation vermitteln. Abciximab und Tirofiban sind Antagonisten am GPIIb-IIIa Rezeptor und hemmen so die Aggregation der Plättchen.

Abciximab ist ein monoklonaler Antikörper, der sehr fest an den Rezeptor bindet und ihn irreversibel blockiert. Die komplette aggregationshemmende Wirkung entfaltet sich schnell und persistiert etwa 6-12h nach der i.v. Bolusgabe. Eine partielle Hemmung der Plättchenaktivität ist allerdings noch einige Tage nachweisbar (*Tcheng 1996*).

Tirofiban ist ein synthetischer GPIIb/IIIa-Rezeptor-Antagonist und wird wie Abciximab parenteral appliziert. Durch seinen kompetitiven Antagonismus und seine kurze Halbwertszeit von 1,5-1,8h ist seine Wirkungsdauer vergleichsweise kurz, nach wenigen Stunden sind die Plättchen wieder voll funktionsfähig (*Topol 1999*).

## **1.5 Fragestellung**

In der vorliegenden Arbeit untersuchten wir mögliche Korrelationen zwischen ermittelten PADA-Werten - welche Rückschlüsse auf die Koagulabilität der Plättchen zulassen - und Krankheitsbildern wie dem ACS, der KHK und insbesondere Stentthrombosen.

Ein weiteres Ziel der Arbeit war eine Evaluation des PADA im klinischen Gebrauch und insbesondere ob mit dem PADA eine Möglichkeit der Überwachung einer Therapie mit Thrombozytenaggregationshemmstoffen wie Clopidogrel, Abciximab und Tirofiban besteht.

## **2. Material und Methodik**

### **2.1 Plättchenadhäsionsassay (PADA)**

#### **2.1.1 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 Plättchenadhäsionsassays (PADA) verwendet. Der Test wurde von HaemoSys Ltd., Jena, Deutschland entwickelt und zur Verfügung gestellt.

### **2.1.2 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) anheftet und intakte, also nicht gehemmte Thrombozyten der Probe an die Polymer-Fibrinogenkonstrukte adhären (siehe Abbildung) 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 scheint zur Diagnose von Veränderungen der Thrombozytenfunktion und zur Überwachung der Therapie mit GPIIb/IIIa-Rezeptorantagonisten und ADP-Antagonisten wie Clopidogrel geeignet (*Graff 2005*). Eine medikamentöse Therapie mit Acetylsalicylsäure hat keinen Einfluß auf den Test (*Graff 2005*).



### **2.1.3 Durchführung**

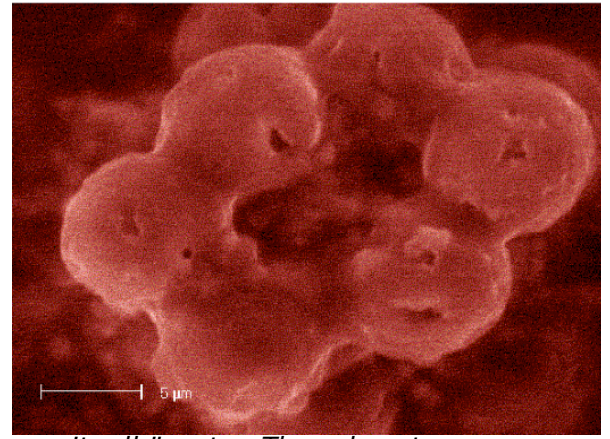
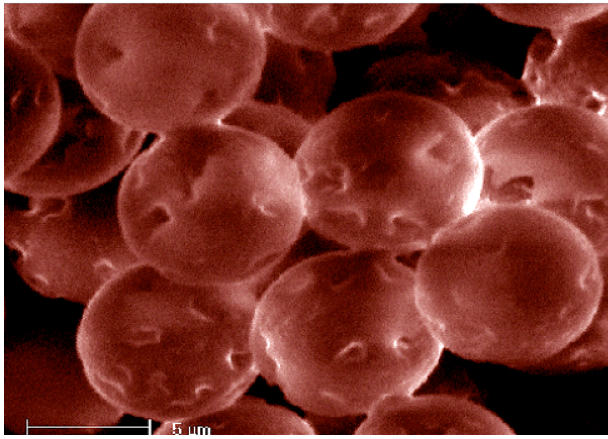
Es wurde 4,5 ml arterielles Blut in einer grünen Sarstedt-Monovette® gesammelt, die 0,5 ml 3,8% Tri-Natriumcitratlösung (0,106 mol/L) enthielt. Nach 45-60 Minuten Inkubationszeit wurden 200µL Citratblut in jeweils ein Reaktionsgefäß übertragen.

Danach wurden 10µL einer kalibrierten Suspension mit Polymerpartikeln in eines dieser Reaktionsgefäße (Messprobe) und 10 µl von der Kontrollsuspension, 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). Der Adhäsionsindex (AI) als Parameter funktionstüchtiger Thrombozyten wurde mit Hilfe der folgenden Formel berechnet:

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

*Elektronenmikroskopische Bilder der PADA Partikel ...*



*..mit adhärenen Thrombozyten*

## **2.2 Statistische Auswertung**

Die statistische Auswertung der von uns ermittelten Rohdaten erfolgte mit Hilfe des Instituts für Medizinische Statistik des Universitätsklinikum Eppendorf (UKE) unter Zuhilfenahme der SPSS-Software.

## **2.3 Patientenkollektiv**

Wir ermittelten die Daten von insgesamt 132 Patienten, die sich in einem Zeitraum von 2006 bis 2008 in der Behandlung des Universitären Herzzentrums des UKE befanden. Alle Patienten waren zum Zeitpunkt der Untersuchung mindestens 18 Jahre alt und gaben ihr Einverständnis für zusätzliche Blutentnahmen.

### **3. Ergebnisse:**

Wir untersuchten insgesamt 132 Patienten und gesunde Probanden über einen Zeitraum von 2 Jahren. Diese 132 gliedern sich wie folgt:

Wir untersuchten 34 Patienten mit akutem kardialen Ereignis (ACS ohne Clopidogrel Medikation, ACS mit Clopidogrel Medikation und akute Stentthrombose mit Clopidogrel Medikation).

Wir untersuchten 47 Patienten, welche sich Routineuntersuchungen im Herzkatheterlabor des Herzzentrums des UKE unterzogen und periprozedural mit Tirofiban oder Abciximab behandelt wurden.

Weiterhin untersuchten wir 38 Patienten, welche eine Dauermedikation mit Clopidogrel erhielten und keinerlei Klinik aufwiesen.

Schlussendlich untersuchten wir 13 Personen, welche zum Zeitpunkt der Untersuchung gesund waren und keinerlei Risikofaktoren für ein kardiales Ereignis hatten und keine thrombozytenfunktionshemmende Medikation einnahmen. Hier fanden wir Werte die weitestgehend den Herstellerangaben entsprachen.

	n(132)	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler
Gesunde	13	49,6	19,74	5,47
ACS	11	75,82	17,075	5,148
ACS und Clopidogrel	11	40,64	22,164	6,683
Stentthrombosen	12	56,67	18,98	5,479
Tirofiban	41	13,47	13,52	0,33
Abciximab	6	0,94	1,09	0,18
Clopidogrelkontrollen	38	31,63	13,095	2,124

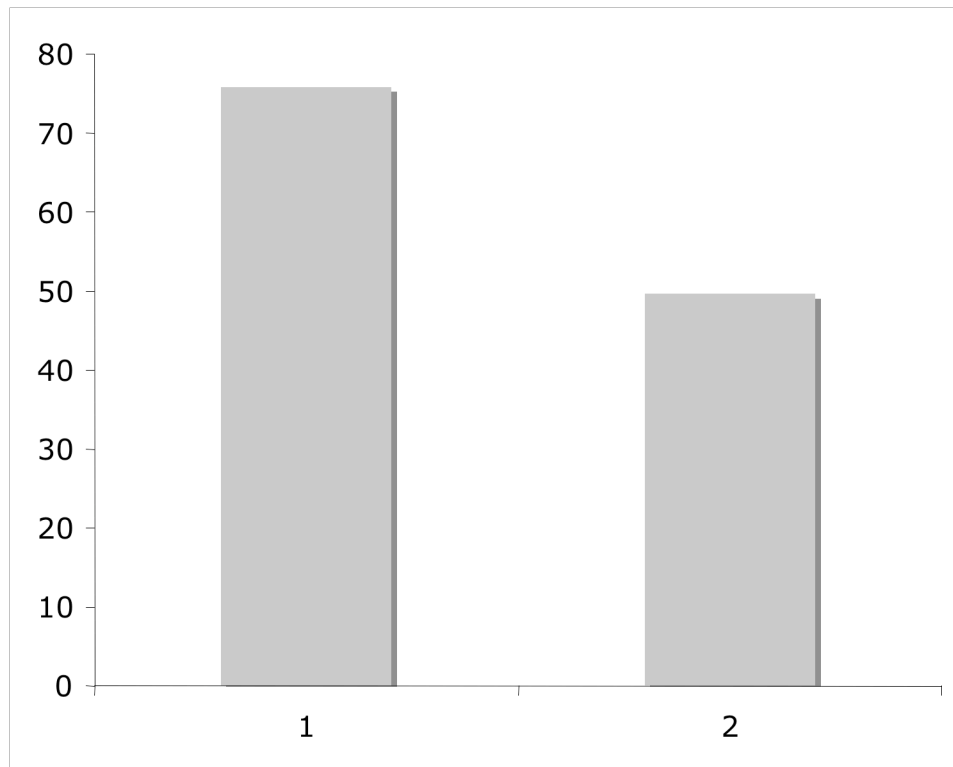
### **3.1.PADA bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom ohne vorherige Medikation**

Wir haben 11 Patienten in die Studie aufgenommen, die sich mit den Symptomen eines akuten Koronarsyndroms in der medizinischen Notaufnahme des UKE vorstellten und zum Zeitpunkt der durchgeführten Blutentnahme zur Bestimmung eines Notfalllabors noch nicht mit Clopidogrel oder anderen thrombozytenaggregationshemmenden Medikamenten außer Acetylsalicylsäure vorbehandelt worden waren.

Bei diesen 11 Patienten konnten PADA-Werte zwischen 41 und 95 ermittelt werden bei einem Mittelwert von 76,82. Der von uns ermittelte

Wert bei gesunden Probanden ohne Medikation mit Clopidogrel entsprach 49,6.

Grafik 1: AI bei ACS (1) und AI bei Gesunden (2).

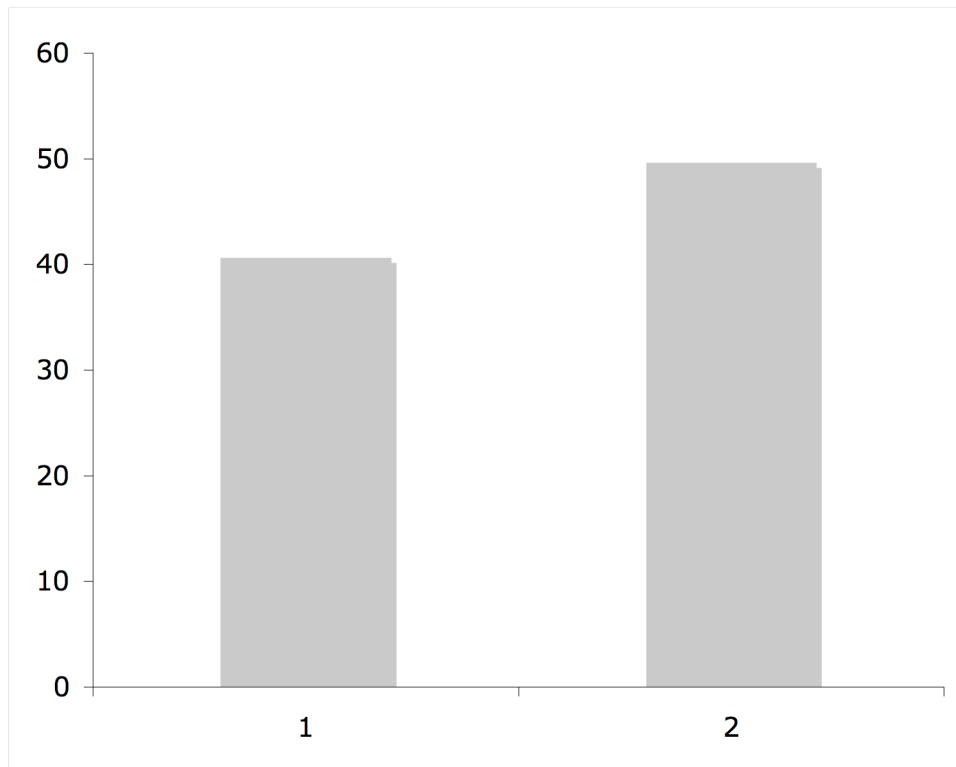


### **3.2 PADA bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom nach vorheriger Medikation**

Bei 11 weiteren Patienten mit akutem Koronarsyndrom und vorheriger Medikation mit Clopidogrel konnten wir PADA-Werte von 25,75 bis 55,53 und einen Mittelwert von 40,64 ermitteln.

Keine Berücksichtigung fand in unserer Studie der Grund für eine vorherige Medikation mit Clopidogrel, entweder als Dauermedikation bei bekannter Herzerkrankung (75mg/d) oder als sogenannte „loading-dose“ (300mg) im Rahmen der Notfallbehandlung.

Grafik 2: AI bei ACS und Clopidogrel (1) und bei Gesunden (2)

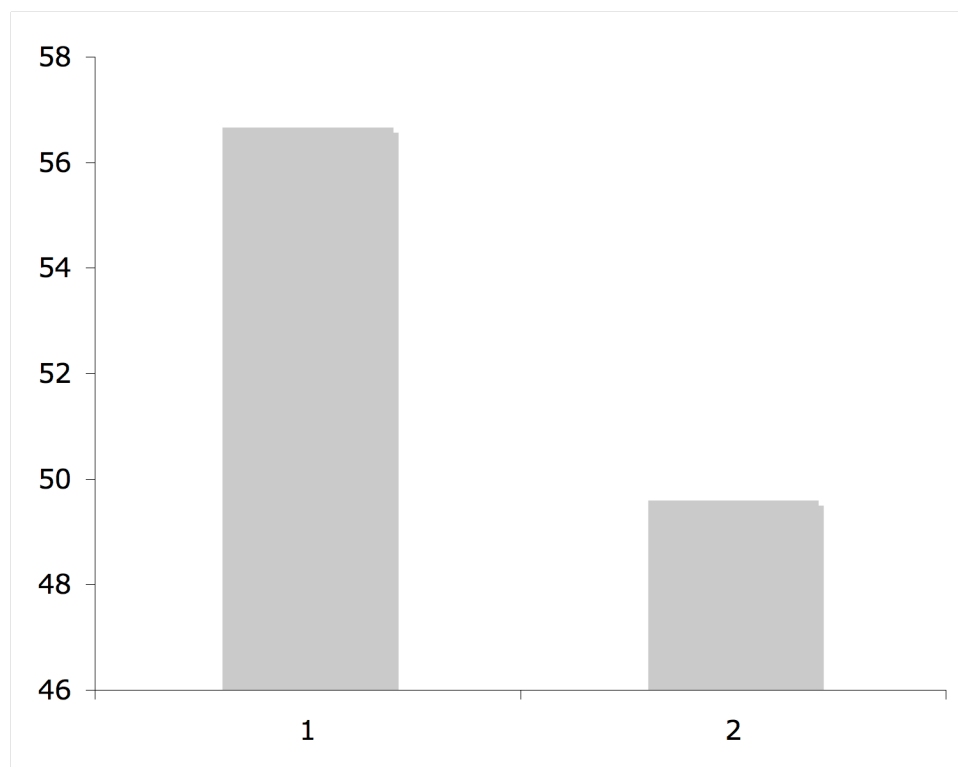


### **3.3 PADA bei Patienten mit Stentthrombose nach vorheriger Medikation**

12 Patienten mit akuter oder subakuter Stentthrombose, welche innerhalb 6 Monaten nach erstmaligem Stenting auftrat, wurden in

unserer Studie untersucht. Unter der dualen Thrombozytenaggregationshemmung zeigte sich bei diesen Patienten sowohl klinisch mit begleitender Angina, ST-Veränderungen im EKG als auch angiographisch eine Stentthrombose. Bei diesen 12 Patienten konnten wir trotz der Clopidogreldauermedikation PADA-Werte zwischen 44,61 und 68,73 messen und so einen Mittelwert von 56,67 ermitteln.

Grafik 3: AI bei Stentthrombosen (1) und bei Gesunden (2)

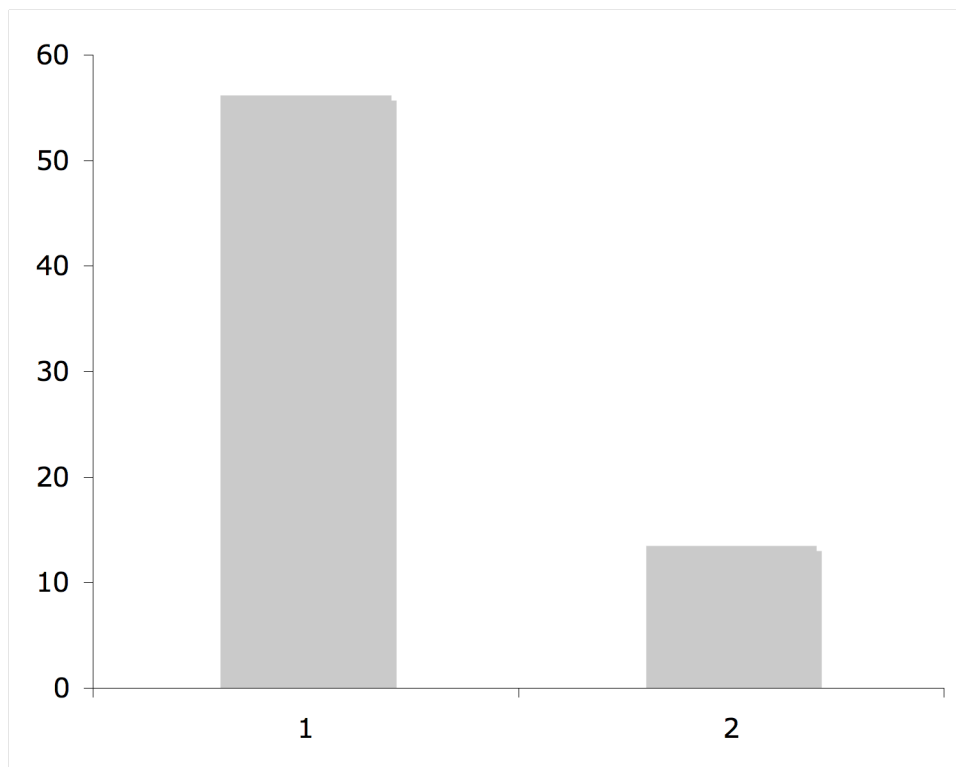




### 3.4 PADA unter Therapie mit Tirofiban

41 Patienten erhielten periprozedural (als sogenannte upstream therapy) vor und während der Durchführung einer Angiographie und oder PCI eine Medikation mit Tirofiban (Aggrastat). Die von uns gemessenen PADA-Werte vor Bolusgabe des Medikaments betragen im Mittel 56,15 und im Anschluss an die Gabe des Medikaments im Mittel 13,47.

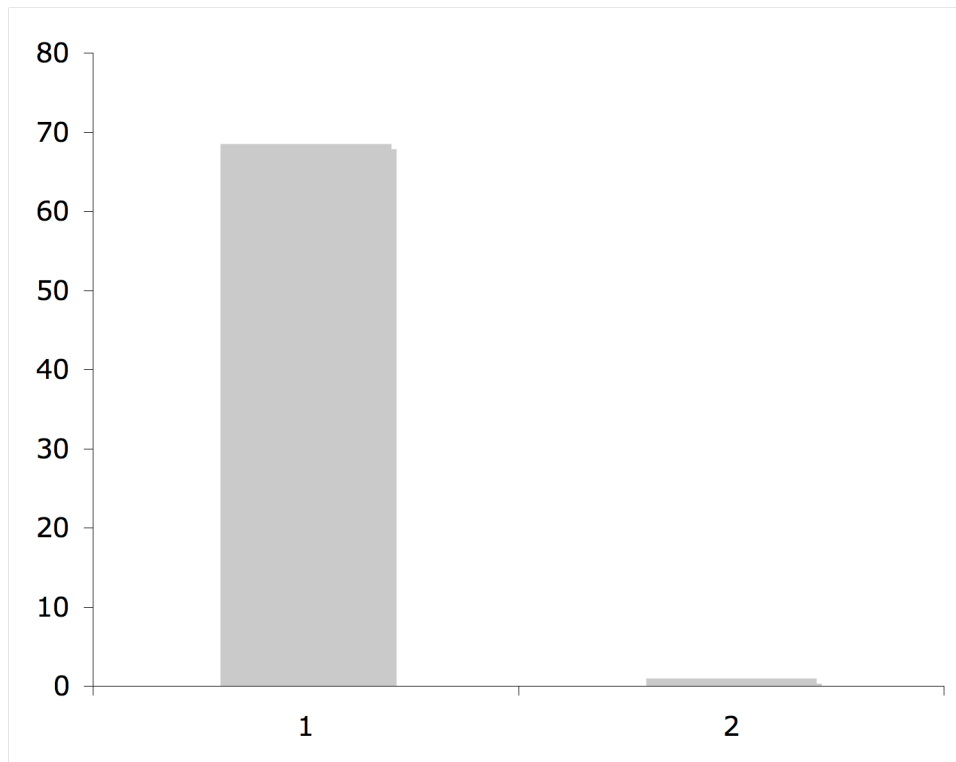
Grafik 4: AI vor (1) und nach Gabe von Tirofiban (2)



### 3.5 PADA unter Therapie mit Abciximab

6 Patienten erhielten eine thrombozytenaggregationshemmende Therapie mit Abciximab (Reopro). Die Gabe des Medikaments wurde vor allem von dem angiographischen Befund abhängig gemacht und insbesondere bei erkannter Dissektion, sog. „slow flow“ oder nachweisbarem Thrombusmaterial durchgeführt. Die vor der Gabe des Medikaments gemessenen PADA-werte ergaben einen Mittelwert von 68,52 und nach der Medikamentengabe einen Mittelwert von 0,94.

Grafik 5: AI vor (1) und nach Gabe von Abciximab (2)

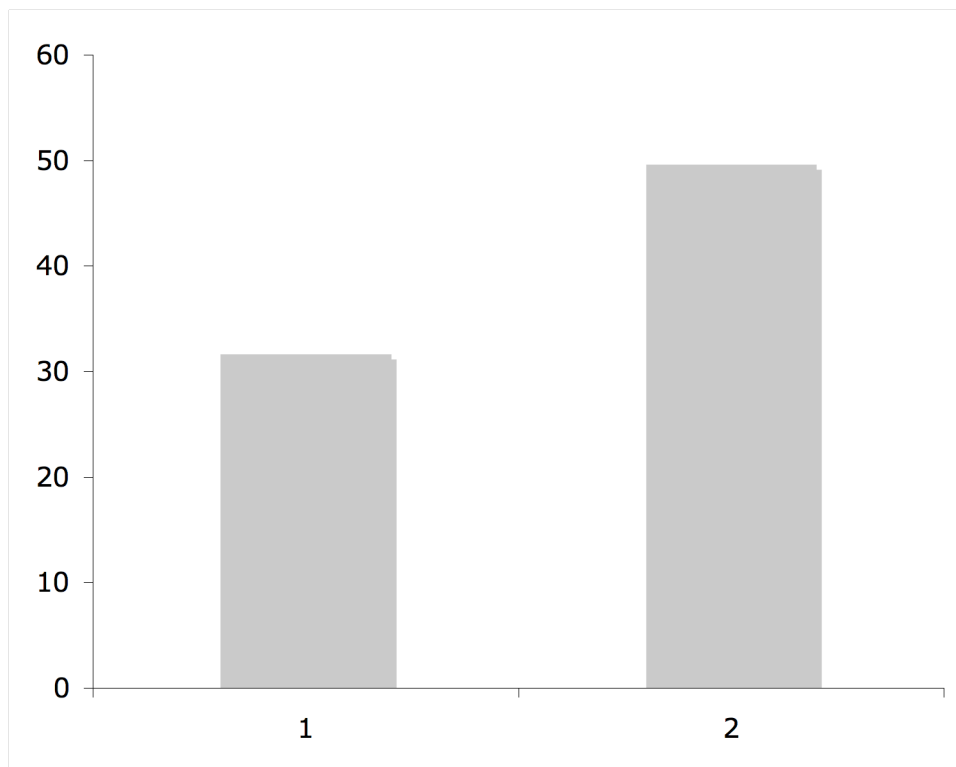


### 3.6 Kontrolluntersuchungen

Wir untersuchten 38 Patienten, die zum Zeitpunkt der Untersuchung mit mindestens 75mg Clopidogrel täglich behandelt wurden und zum Zeitpunkt der Untersuchung eine unauffällige Klinik aufwiesen.

Wir ermittelten für diese 38 Patienten einen Mittelwert von 31,6.

Grafik 6: AI bei Clopidogreleinnahme (1) und bei Gesunden (2)

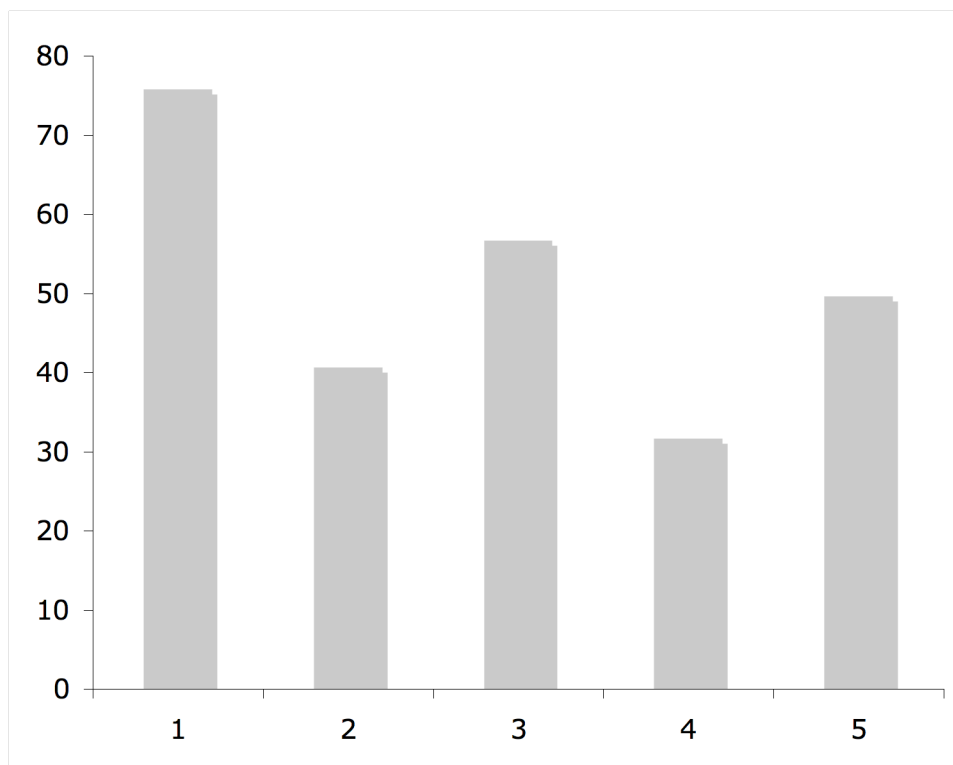


## Evaluation des Platelet Adhesion Assay

Tabelle 2: Post-Hoc Tests, Vergleich der Gruppen . Hier werden die oben beschriebenen Patientenkollektive verglichen, die mittlere Differenz bezieht sich auf die jeweils erhobenen PADA-Werte dieser Patienten. Die Signifikanz wird als p-Wert angegeben.

(I) index	(J) index	Mittlere Differenz (I-J)	Standardfehler	Signifikanz	95%-Konfidenzintervall	
					Obergrenze	Untergrenze
ACS	Clopidogrel	44.187(*)	5.591	.000	33.03	55.34
	ACS + Clopidogrel	35.182(*)	6.964	.000	21.29	49.08
	Stentthrombose	19.152(*)	6.817	.006	5.55	32.75
Clopidogrel	ACS	-44.187(*)	5.591	.000	-55.34	-33.03
	ACS + Clopidogrel	-9.005	5.591	.112	-20.16	2.15
	Stentthrombose	-25.035(*)	5.408	.000	-35.83	-14.24
ACS + Clopidogrel	ACS	-35.182(*)	6.964	.000	-49.08	-21.29
	Clopidogrel	9.005	5.591	.112	-2.15	20.16
	Stentthrombose	-16.030(*)	6.817	.022	-29.63	-2.43
Stentthrombose	ACS	-19.152(*)	6.817	.006	-32.75	-5.55
	Clopidogrel	25.035(*)	5.408	.000	14.24	35.83
	ACS + Clopidogrel	16.030(*)	6.817	.022	2.43	29.63

Grafik 7: 1 ACS, 2 ACS und Clopidogrel, 3 Stentthrombosen, 4 Clopidogrel, 5 Gesunde



#### **4. Diskussion:**

##### **Zusammenfassung der Ergebnisse:**

Die von uns untersuchten Patienten teilten wir in Gruppen ein.

Diese Gruppen umfassten einerseits Patienten mit akuten kardialen Ereignissen, seien es Angina pectoris, akuter Herzinfarkt oder die akute bis subakute Stentthrombose, andererseits Patienten, welche im Rahmen von Kontrolluntersuchungen im Verlauf und unter Medikation mit Clopidogrel untersucht wurden.

Außerhalb dieser Reihe von Patienten unter der Medikation mit Clopidogrel, untersuchten wir Patienten, welche periprozedural mit anderen thrombozytenfunktionshemmenden Medikamenten, GPIIB/IIIA Antagonisten wie Tirofiban und Abciximab behandelt wurden.

Patienten mit akutem kardialen Ereignis zeigten jeweils höhere Werte als gesunde Probanden. Patienten mit akutem Koronarsyndrom ohne vorherige Antikoagulation repräsentierten die Gruppe mit den höchsten Adhäsionsindices.

Die von uns im Verlauf nach einem kardialen Ereignis untersuchten Patienten waren eine relativ inhomogene Gruppe, wobei jedoch im Mittel

Adhäsionsindices im therapeutischen Bereich (laut Herstellerangaben 20-40) gefunden werden konnten.

Patienten mit akuter oder subakuter Stentthrombose zeigten im Vergleich mit der klinisch ähnlichen Gruppe der Patienten mit ACS unter Clopidogrel erhöhte Adhäsionsindices.

#### **4.1 PADA bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom ohne vorherige Medikation**

Die von uns untersuchten Patienten mit akutem kardialen Ereignis, welche zum Zeitpunkt der Aufnahme noch keine plättchenhemmende Therapie erhielten, zeigten signifikant erhöhte PADA-Werte von im Mittel 75% (Gesunde: 40-60)

Diese Werte lassen unserer Meinung auf eine erhöhte Aktivität der Thrombozyten während des Akuten Koronarsyndroms schliessen. Hierzu veröffentlichten Langer et al 2007 eine Arbeit mit dem Titel „The role of platelets for the pathophysiology of acute coronary syndromes“ (Langer 2006)

#### **4.2 PADA bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom nach vorheriger Thrombozytenaggregationshemmung**

Diese Patienten zeigten unter Medikation mit Clopidogrel erhöhte Werte (Mittelwert 40,64), welche sich aber nicht signifikant von den Patienten aus unseren Kontrolluntersuchungen (Mittelwert 31,63) unterschieden ( $p=0,112$ ). Diese Erhöhung kann mehrere Ursachen haben, welche bereits beschrieben wurden.

Zum einen kommt es im Rahmen der akuten Phasereaktion mit erhöhten Fibrinogenwerten zu einer erhöhten Koaguabilität der Thrombozyten, zum anderen ist eine lokale Ausschüttung von thrombozytenaktivierenden Mediatoren von Willerson bereits beschrieben (*Willerson 2006*).

Desweiteren ist eine mangelnde Wirkung antikoagulativer Medikamente möglich. Hierzu wiesen Müller et al nach, daß bis zu 26 Prozent der Patienten, welche mit Clopidogrel behandelt werden, sogenannte semi-responder sind (*Müller 2003*). Gurbel und Tantry beschreiben in einem Review von 2006 bei 31-35% der untersuchten Patienten eine Clopidogrel-Resistenz bei einem Patientengut von 92 Patienten (*Gurbel 2006*).

Clopidogrel wird wie in der Einleitung erwähnt, durch das Cytochrom P-450 in seinen aktiven Metaboliten umgewandelt. Neuere Arbeiten zeigen einen Zusammenhang zwischen einem Cytochrom P-450 Polymorphismus

und einer abgeschwächten Clopidogrelwirkung, sowie einer daraus resultierenden erhöhten Rate an kardiovaskulären Ereignissen bei Trägern des erwähnten Polymorphismus (*Mega* 2008).

Die Tatsache, daß die PADA-Werte dieser Patienten signifikant geringer sind als bei Patienten mit ACS ohne vorherige Medikation könnte als Hinweis darauf dienen, daß die Thrombozytenaktivierung und deren erhöhte Koaguabilität nur einen Teil der pathologischen Geschehen während des akuten kardialen Ereignisses darstellen.

#### **4.3 PADA bei Patienten mit Stentthrombose nach vorheriger Medikation**

Pasceri et al. veröffentlichten 2007 eine Metaanalyse klinischer Studien (*Pasceri* 2007). Man verglich das Risiko einer Stentthrombose bei Bare-metal Stents und medikamenten-beschichteten, sogenannten „Drug eluting“ Stents. Als Stentthrombose werden koronarangiographisch oder autoptisch gesicherte Thrombosen im Bereich eingebrachter Stents bezeichnet (*Windecker* 2007). Diese bei drug-eluting stents meist spät nach dem Stenting auftretende Komplikation und bei bare-metal stents eher früh auftretende Komplikation (*Melikin* 2008, *Gurbel* 2007), versucht



man durch die duale Plättchenhemmung mittels ASS und Clopidogrel zu verhindern.

Die von uns untersuchten Patienten wurden zum Zeitpunkt des Ereignisses bereits über einen längeren Zeitraum mit Clopidogrel behandelt.

Die von uns ermittelten Ergebnisse zeigen vor allem im Vergleich zu der Patientengruppe mit akutem kardialen Ereignis und unter Medikation mit Clopidogrel einen signifikanten Unterschied mit stark erhöhten PADA-Werten (Mittelwert 56,67) mit einer mittleren Differenz von 16,03 zu den Patienten der Gruppe mit ACS und Clopidogrel (Mittelwert 40,64) ( $p=0,022$ ), so dass wir hier von einer erhöhten Inzidenz von Clopidogrel Non-Respondern ausgehen.

#### **4.4 Patienten unter Therapie mit Tirofiban**

Die hier untersuchten Werte spiegeln die hohe Potenz dieses ADP-Rezeptorantagonisten wieder (*Gowda 2004, Tcheng 1996*). Es kommt hier zu einer reversiblen Hemmung der Thrombozyten, welche weit oberhalb des therapeutischen Bereichs für z.B. Clopidogrel liegt.

#### **4.5 Patientin unter Therapie mit Abciximab**

Abciximab ist der derzeit stärkste, über den Mechanismus der Blockade des GP-IIb/IIIa-Rezeptors wirkende Thrombozytenhemmstoff auf dem Markt (*Gabriel* 2006). Diese Erkenntnis spiegelt sich unseres Erachtens in der nahezu kompletten Hemmung der Plättchen in den von uns gesammelten Proben wieder.

#### **4.6 Kontrolluntersuchungen**

Im Zeitraum von 2004 bis 2008 wurden von uns 38 Patienten untersucht, welche bei täglicher Einnahme von 75mg Clopidogrel eine unauffällige Klinik aufwiesen. Die hier ermittelten Werte der prozentualen Hemmung ähneln denen anderer bereits besser etablierter Tests wie dem PFA-100. So zeigten zum Beispiel *Velick-Salchner et al.* 2008 eine prozentuale Hemmung durch Clopidogrel und ASS 100 um ca. 23% im PFA 100 (*Velick-Salchner* 2008). Unsere Ergebnisse zeigen ähnliche Werte für den PADA bei Hemmung durch 75 mg Clopidogrel.

Im Vergleich mit den von uns untersuchten gesunden Probanden zeigt sich ein Unterschied von ca. 18 (Mittelwert Gesunde 49,6; Mittelwert Clopidogrel-Kontrollen 31,63).

Im Vergleich mit der Gruppe der Patienten mit Stentthrombosen, die bereits Clopidogrel einnahmen zeigte sich ebenfalls ein signifikanter mittlerer Unterschied von  $>25$  ( $p < 0,000$ ).

#### **4.7 Zur aktuellen Diskussion der Clopidogrelresistenz**

Die Rate an Patienten, welche trotz Medikation mit Clopidogrel eine insuffiziente Hemmung ihrer Thrombozyten zeigen, liegt je nach Studie bei 5-30 % (*Neubauer 2008, Gurbel 2007a, Müller 2003*). Eine Korrelation zwischen einer möglichen Clopidogrelresistenz und der klinischen Ereignisrate der Patienten ist laut Gurbel et al nicht zu finden (*Gurbel 2007a*). Eine ähnliche Aussage treffen Harrison et al in einer Arbeit von 2007 (*Harrison 2007*). Lordkipanidzé et al vergleichen in einer Arbeit von 2008 mehrere Thrombozytenfunktionstests und kommen zu ähnlichen Ergebnissen wie die oben erwähnten Arbeiten (*Lordkipadnizé 2008*). Hierzu ist allerdings zu sagen, dass nicht jede „Clopidogrelresistenz“ eine echte Resistenz ist. So zeigten Siller-Matula et al zum Beispiel in einer Arbeit von 2008 eine verminderte Hemmung der Plättchen durch Clopidogrel bei gleichzeitiger Einnahme gängiger Ca-Kanal-Blocker (*Siller-Matula 2008*).

Neue Studien zeigen einen möglichen Zusammenhang zwischen abgeschwächter Clopidogrelwirkung und der gleichzeitigen Einnahme von Protonenpumpeninhibitoren (Juurlink 2009).

Wang et al beschreiben in einer Studie von 2008 allerdings einen deutlich erkennbaren Zusammenhang zwischen Clopidogrelresistenz und klinischem Outcome; Wang beschreibt eine Rate von ca. 16% thrombotischer Ereignisse bei Patienten mit Clopidogrelresistenz und eine Rate von nur ca. 2,5% bei Patienten mit normaler Clopidogrelresponse (Wang 2008). Die Resistenz ist allerdings in ihrer Inzidenz insgesamt nicht sicher bekannt (Gladding 2008). Trotz Eingang in die Empfehlungen der American Heart Association (AHA) und der Society for Cardiovascular Angiography and Interventions (SCAI) zur Plättchenmessung vor der Koronarintervention von ungeschützten Hauptstammstenosen, LAD-Bifurkationsstenosen oder letztem offenem Gefäß kann laut einer im August 2008 veröffentlichten Arbeit von Miguel et al (De Miguel 2008) derzeit keine Empfehlung zur Nutzung einer Therapieüberwachung mit Thrombozytenfunktionsassays wie dem PADA gegeben werden. Barsky et al beschreiben eine Korrelation zwischen bestehender Clopidogrelresistenz und dem klinischen Outcome, im Sinne erneuter kardiovaskulärer Ereignisse bei Patienten nach elektivem Stenting (Barsky 2006).

Die Herstellerangaben der Firma Sysmex geben einen Normalbereich von 40-60 für gesunde Probanden vor. Dieser wird in unserer Untersuchung mit einem Mittelwert von 49 bei 13 Probanden nahezu exakt erreicht.

Desweiteren gibt der Hersteller mit 20-40 einen therapeutischen Bereich für Clopidogrel an. Dieser wird bei unseren Patienten ebenfalls erreicht.

Die absoluten Werte sind unserer Meinung nach jedoch von untergeordneter Bedeutung, da sie keinerlei Rückschlüsse auf zukünftige Ereignisse wie eben die Stentthrombose zulassen, hierzu wäre eine prospektive Studie notwendig.

Diese Untersuchung liefert lediglich eine Beobachtungsanalyse des PADA im klinischen Gebrauch. Wichtig ist unserer Meinung nach der signifikante Unterschied zwischen den Patienten mit akuter Klinik unter der Medikation mit Clopidogrel, namentlich der Gruppe der Stentthrombosen und der Patienten mit ACS (anderer Ursache als der Stentthrombose) unter Clopidogrel. Dieser signifikante Unterschied ist gut vereinbar mit einer möglichen Resistenz oder zumindest verminderten „Response“ gegenüber Clopidogrel bei diesen Patienten.

Bonello et al zeigen in ihrer Studie von 2006, daß Dosisanpassungen, welche aufgrund der von ihnen erhobenen Testergebnisse gemacht wurden das klinische Outcome ihrer Patienten nicht verschlechtert und in Hinsicht auf z.B. Blutungsereignisse durch eine Erhöhung der Clopidogreldosis sicher seien (*Bonello 2006*).

Außerhalb des Rahmens dieser Studie wurden bei der Gruppe der „low“ oder „non-responder“ Dosisanpassungen im Sinne einer Erhöhung der Clopidogrelmedikation vorgenommen und diese mit dem PADA kontrolliert. Ob solche Dosisanpassungen die Patienten besser vor thrombembolischen Ereignissen schützen oder nicht, muss ebenfalls Gegenstand weiterer prospektiver Analysen werden.

#### **4.8 Fehlerquellen und Kritikpunkte**

Der zentrale Kritikpunkt an dieser Arbeit ist die Tatsache, dass wir den PADA nicht mit einem der gängigen Tests wie dem PFA 100 oder dem Cone Platelet Analyzer verglichen oder parallel die Hemmung der Plättchen in unseren Proben durch das Labor unserer Klinik nachweisen ließen. Unserer Meinung nach ist hier aber der Vergleich mit der veröffentlichten Literatur durchaus plausibel und gerechtfertigt. Lordkipanidzé et al. verglichen in einer Studie von 2008 4 verschiedene Messverfahren der Plättchenhemmung insbesondere durch Clopidogrel. Hier zeigte sich in den verschiedenen Tests eine Hemmung der Plättchenfunktion um ca. 30% bis 40% (35). Unsere Daten – siehe insbesondere unter 3.6 Kontrolluntersuchungen – bieten vergleichbare Ergebnisse.

Ein weiterer Kritikpunkt betrifft vor allem unsere Kollektive der Patienten mit akuter Symptomatik wie dem akuten Herzinfarkt und der akuten Stentthrombose. Da der PADA stark abhängig von dem probeneigenen Fibrinogen ist, kann eine verfälschte Messung nie sicher ausgeschlossen werden.

Zusammenfassend ist zu sagen, daß der PADA mit dieser Untersuchung nur klinisch validiert werden konnte. Diese Studie stellt lediglich eine Beobachtungsanalyse dar, es existiert nach wie vor kein Goldstandard für die Überwachung plättchenhemmender Therapie in den von uns untersuchten Patientenkollektiven.

Unsere Hypothese, daß ein hoher PADA-Wert bei Patienten nach PCI und laufender Medikation mit Clopidogrel mit einem hohen Risiko korreliert scheint sich zu bestätigen, sollte aber Gegenstand prospektiver Untersuchungen sein.

## **5. Zusammenfassung**

Die Einnahme von thrombozytenfunktionshemmenden Medikamenten, und deren Dosis korrelieren gut mit niedrigen PADA-Werten. Patienten mit akuten kardialen Ereignissen zeigen erhöhte Werte, es lässt sich allerdings aus diesen Werten keine therapeutische Konsequenz ableiten.

Patienten mit akuter Stentthrombose trotz Einnahme von Clopidogrel zeigen im Durchschnitt signifikant höhere Werte als andere Patienten mit kardialen Ereignissen trotz Clopidogreleinnahme, so dass wir bei diesen Patienten von einer erhöhten Anzahl an „Non“ oder „poor“ respondern ausgehen, welche sich unseres Erachtens mit dem PADA erkennen lassen. Mit dem PADA kann die medikamentöse Therapie mit ADP-Antagonisten wie Clopidogrel und GPIIb/IIIa Inhibitoren überwacht werden. Ein hoher, mit dem PADA bestimmbarer Adhäsionsindex scheint mit dem Risiko an einem akuten Koronarsyndrom zu erkranken, zu korrelieren. Weiterhin lassen sich bei Patienten mit akuter oder subakuter Stentthrombose und erhöhtem Adhäsionsindex trotz Therapie mit Clopidogrel, Dosisanpassungen vornehmen.

Insgesamt scheint der PADA für die Kontrolldiagnostik bei Patienten ohne Akutereignis geeignet. In der akuten Phase eignet sich der PADA nicht zur Diagnosestellung.



## **6. Literatur:**

1. ALPERT JS, THYGESEN K, JAFFE A, WHITE HD (2008) The universal definition of myocardial infarction: a consensus document: ischaemic heart disease. *Heart*; 94(10):1335-41.
2. AYTEKIN V (2007) Update on ACC/ESC criteria for acute ST-elevation myocardial infarction. *Anadolu Kardiyol Derg*; 7 Suppl 1:14-5.
3. BANSAL D, EIGENBRODT M, GUPTA E, MEHTA JL (2007) Traditional risk factors and acute myocardial infarction in patients hospitalized with cocaine-associated chest pain. *Clin Cardiol*; 30(6):290-4.
4. BARSKY AA, ARORA RR (2006) Clopidogrel Resistance: Myth or Reality. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*; 11(1):47-53.
5. BONELLO L, CAMOIN-JAU L, ARQUES S, BOYER C, PANAGIDES D, WITTENBERG O, SIMEONI MC, BARRAGAN P, DIGNAT-GEORGE F, PAGANELLI F (2008) Adjusted Clopidogrel Loading Doses According to Vasodilator-Stimulated Phosphoprotein Phosphorylation Index Decrease Rate of Major Adverse Cardiovascular Events in Patients With Clopidogrel Resistance. *JACC*; 51(14):1404-11.
6. BONZEL T, ERBEL R, HAMM CW, LEVENSON B, NEUMANN FJ, RUPPRECHT HJ, ZAHN R (2008) Perkutane Koronarintervention (PCI). *Clin Res Cardiol*; 97(8):513-547.
7. CHRISTIAENS L, MACCHI L (2007) Monitoring of the antiplatelet drugs effect in patients with coronary artery disease: what is the real clinical impact? *Curr Vasc Pharmacol*; 5(4):293-301.
8. DE MIGUEL A, IBANEZ B, BADIMON JJ (2008) Clinical implications of clopidogrel resistance. *Thrombosis and Haemostasis*; 100(2):196-203.
9. DEVON HA, ZERWIC JJ (2002) Symptoms of acute coronary syndromes: are there gender differences? A review of the literature. *Heart Lung*; 31(4):235-45.
10. DIETZ R, RAUCH B (2003) Guidelines for diagnosis and treatment of chronic coronary heart disease. Issued by the executive committee of the German Society of Cardiology--Heart Circulation Research in cooperation with the German Society for Prevention and

Rehabilitation of Cardiac Diseases and the German Society for Thoracic and Cardiovascular Surgery. *Z Kardiol*; 92(6):501-21.

11. DORWEILER B, VAHL CF (2007) Pathogenesis of atherosclerosis: Evaluation of an in vitro model for the simulation of plaque development. *Z Herz- Thorax- Gefäßchir*; 21:225-235.
12. GABRIEL HM, OLIVIERA EL (2006) Role of abciximab in the treatment of coronary artery disease. *Expert Opin Biol Ther*; 6(9):935-42.
13. GAWAZ (2002). Blood Platelets: physiology, pathophysiology, membrane receptors, antiplatelet principles and therapy for atherothrombotic diseases. Thieme Verlag. Stuttgart, New York. S.2-21
14. GAWAZ M, BRAND K, DICKFELD T, POGATSA-MURRAY G, PAGE S, BOGNER C, KOCH W, SCHOMIG A, NEUMANN F (2000). Platelets induce alterations of chemotactic and adhesive properties of endothelial cells mediated through an interleukin-1-dependent mechanism. Implications for atherogenesis. *Atherosclerosis*; 148(1):75-85.
15. GAWAZ M, NEUMANN FJ, DICKFELD T, KOCH W, LAUGWITZ KL, ADELSBERGER H, LANGENBRINK K, PAGE S, NEUMEIER D, SCHOMIG A, BRAND K (1998) Activated platelets induce monocyte chemotactic protein-1 secretion and surface expression of intercellular adhesion molecule-1 on endothelial cells. *Circulation*; 98(12):1164-1171.
16. GLADDING P, WEBSTER M, ORMISTON J, OLSEN S, WHITE H (2008) Antiplatelet drug nonresponsiveness. *Am Heart J*; 155(4):591-9.
17. Global burden of disease: 2004 update, WHO
18. GOLDMANN B et al, Studie in Veröffentlichung
19. GOWDA RM, KHAN IA, VASAVADA BC, SACCHI TJ (2004) Therapeutics of platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor antagonism. *Am J Ther*; 11(4):302-7.
20. GRAFF J, HARDER S (2005) Investigation of the PADA as a method for monitoring GPIIb/IIIa inhibitors and other antiplatelet agents. *Semin Thromb Hemost*; 31(4):482-5.

21. GURBEL PA, BECKER RC, MANN KG, STEINHUBL SR, MICHELSON KG (2007) Platelet Function Monitoring in Patients With Coronary Artery Disease. *J Am Coll Cardiol*; 50(19):1822-34.
22. GURBEL PA, DICHIARI J, TANTRY US (2007) Antiplatelet Therapy After Implantation of Drug-Eluting Stents: Duration, Resistance, Alternatives, and Management of Surgical Patients. *Am J Cardiol*; 100(8):18-25.
23. GURBEL PA, TANTRY US (2006) Clopidogrel resistance? *Thrombosis Research*; 120(3):311-321.
24. GURBEL PA, TANTRY US (2007) Stent thrombosis: role of compliance and nonresponsiveness to antiplatelet therapy. *Rev Cardiovasc Med*; 8(1):19-26.
25. HAMM CW, BLEIFELD W (1988) Unstable angina, current concepts of medical management. *Cardiovasc Drugs Ther*; 2(3):333-9.
26. HARRISON P, FRELINGER AL 3<sup>rd</sup>, FURMAN MI, MICHELSON AD (2007) Measuring antiplatelet drug effects in the laboratory. *Thrombosis Research*; 120(3):323-36.
27. HAWIGER J (1995) Mechanisms involved in platelet vessel wall interaction. *Thromb Haemost*; 74(1):369-372.
28. HAWRYLOWICZ CM, HOWELLS GL, FELDMANN M (1991) Platelet-derived interleukin 1 induces human endothelial adhesion molecule expression and cytokine production. *J. Exp. Med*; 174(4):785-790.
29. HOLT JC, NIEWIAROWSKI S (1985) Biochemistry of alpha granule proteins. *Semin. Hematol*; 22(2):151-163
30. JAFFE R, STRAUSS BH (2007) Late and very late thrombosis of drug-eluting stents: evolving concepts and perspectives. *J Am Coll Cardiol*; 50(2):119-27.
31. JAWAD E, ARORA R (2008) Chronic stable angina pectoris. *Dis Mon*; 54(9):671-89.
32. JENSEN LO, MAENG M, KALTOFT A, THAYSSSEN P, HANSEN HH, BOTTCHER M, LASSEN JF, KRUSSEL LR, RASMUSSEN K, HANSEN KN, PEDERSEN L, JOHNSEN SP, SOERENSEN HT, THUESEN L (2007) Stent Thrombosis, Myocardial Infarction, and Death After

Drug-Eluting and Bare-Metal Stent Coronary Interventions. *J Am Coll Cardiol*; 50(5):463-70.

33. JNEID H, BHATT BL, CORTI R, BADIMON JJ, FUSTER V, FRANCIS GS (2003) Aspirin and Clopidogrel in Acute Coronary Syndromes. *Arch Intern Med*; 163(10):1145-53
34. JUURLINK DN, GOMES T, KO DT, SZMITKO PE, AUSTIN PC, TU JV, HENRY DA, KOPP A, MAMDANI MM (2009) A population-based study of the drug interaction between proton pump inhibitors and clopidogrel. *CMAJ*; 180(7):713-8.
35. JURK K, KEHREL BE (2005) Platelets: physiology and biochemistry. *Semin Thromb Hemost*; 31(4):381-92.
36. LORDKIPANIDZÉ P, NGUYEN, SCHAMPAERT, PALISAITIS, DIODATI (2008) Comparison of four tests to assess inhibition of platelet function by clopidogrel in stable coronary artery disease patients. *Eur Heart J*; 29:2877-85.
37. MAIR J (1997) Cardiac troponin I and troponin T: are enzymes still relevant as cardiac markers? *Clin Chim Acta*; 3(1):99-115.
38. MEGA JL, CLOSE SL, WIVIOTT SD, SHEN L, HOCKETT RD, BRANDT JT, WALKER JR, ANTMAN EM, MACIAS WL, BRAUNWALD E, SABATINE MS (2008) Cytochrome P-450 polymorphisms and response to Clopidogrel. *New England Journal of Medicine*; 360(4):354-62.
39. MELIKIAN N, WIJNS W (2008) Drug-eluting stents: a critique. *Heart*; 94(2):145-52.
40. MÜLLER I, BESTA F, SCHULZ C, MASSBERG S, SCHÖNIG A, GAWAZ M (2003) Prevalence of clopidogrel non-responders among patients with stable angina pectoris scheduled for elective coronary stent placement. *Thromb Haemost*; 89(5):783-7.
41. Nationale Versorgungseleitlinie der Bundesärztekammer Version 1.8 April 2008
42. Nationale Versorgungseleitlinie der Bundesärztekammer, Chronische KHK, Version 1.4 November 2006

43. NEUBAUER H, LASK S, ENGELHARDT A, MÜGGE A (2008) How to optimise clopidogrel therapy? Reducing the low-response incidence by aggregometry-guided therapy modification. *Thromb Haemost*; 99(2): 357-62.
44. O'Rourke RA (2008) Optimal medical therapy is a proven option for chronic stable angina. *J Am Coll Cardiol*; 52(11):905-7.
45. PASCERI V, PATTI G, SPECIALE G, PRISTIPINO C, RICHICHI G, DI SCIASCIO G (2007) Meta-analysis of clinical trials on use of drug-eluting stents for treatment of acute myocardial infarction. *Am Heart J*; 153(5):749-54.
46. REGITZ-ZAGROSEK V, LEHMKUHL E, WEICKERT MO (2006) Gender differences in the metabolic syndrome and their role for cardiovascular disease. *Clin Res Cardiol*; 95(3):136-47.
47. RIESS H (2004) Hemostasis- a finely regulated protective mechanism? Pathophysiology of venous thromboembolism. *Pharm Unserer Zeit*; 33(3):166-71
48. RINGLEB PA (2006) Thrombolytics, Anticoagulants, and Antiplatelet Agents. *Stroke*; 37(2):312-3.
49. ROSOVE MH (2004) Platelet glycoprotein IIb/IIIa inhibitors. *Best Pract Res Clin Haematol*; 17(1):65-76.
50. SEDLMAYR P, BLASCHITZ A, WILDERS-TRUSCHNIG M, TIRAN A, DOHR G (1995) Platelets contain interleukin-1 alpha and beta which are detectable on the cell surface after activation. *Scand J Immunol*; 42:209-214.
51. SIESS W 1989. Molecular mechanisms of platelet activation. *Physiol. Rev*; 69(1):58-178.
52. SILBER S, BÖHM M, GOTTWICK M, BORGGREFE M, DIETZ R (2006) Akutes Herzinfarktrisiko bei mangelnder Clopidogrelgabe nach koronarer Stentimplantation. *Dtsch Arztebl*; 103(43): 2863-8.
52. SILLER-MATULA JM, LANG I, CHRIST G, JILMA B (2008) Calcium-channel blockers reduce the antiplatelet effect of clopidogrel. *J Am Coll Cardiol*; 52(19): 1557-63.
53. Statistisches Bundesamt

- 54.TCHENG JE(1996) Glycoprotein IIb/IIIa Receptor Inhibitors: Putting the EPIC, IMPACT II, RESTORE, and EPILOG Trials into Perspective. *Am J Cardiol*; 78(3A):35-40.
- 55.TOPOL EJ ,BYZOWA EV, PLOW EF (1999) Platelet GPIIb/IIIa blockers. *Lancet*; 353(9148): 227-31.
- 56.TOTH PP (2008) Subclinical atherosclerosis: what it is, what it means and what we can do about it. *Int J Clin Pract*; 62(8):1246-54.
- 57.TRABETTI E (2008) Homocysteine, MTHFR gene polymorphisms, and cardio-cerebrovascular risk. *J Appl Genet*; 49:267-82.
- 58.VELICK-SALCHNER C ,MAIER S, INNERHOFER P, STREIF W, KLINGLER A, KOLBITSCH C, FRIES D (2008) Point-of-Care Whole Blood Impedance Aggregometry Versus Classical Light Transmission Aggregometry for Detecting Aspirin and Clopidogrel: The Result of a Pilot Study. *Anesth Analg*; 107(6):1798-1806.
- 59.VILLANUEVA FS (2002) Myocardial contrast echocardiography in acute myocardial infarction. *Am J Cardiol*; 90:38J-47J.
- 60.WANG ZJ, ZOUH YJ, LIU YY, YU M, SHI DM, ZHAO YX, GUO YH, CHENG WJ, JIA DA, CAO Z, NIE B, GE HL, YANG SW, YAN ZX (2008) Impact of clopidogrel resistance on thrombotic events after percutaneous coronary intervention with drug-eluting stent. *Thromb Res*; 124(1):46-51.
- 61.WHISS PA, LUNDAHL TH, BENGTSSON T, LINDAHL TL, LUNELL E, LARSSON R (2000) Acute effects of nicotine infusion on platelets in nicotine users with normal and impaired renal function. *Toxicol Appl Pharmacol*; 163:95-104.
- 62.WHITE HD, CHEW DP (2008) Acute myocardial infarction. *Lancet*; 372: 570-84.
- 63.WILLERSON JT (1995) Conversion from chronic to acute coronary heart disease syndromes. Role of platelets and platelet products. *Tex Heart Inst J*; 22(1):13-9
- 64.WINDECKER S, MEIER B (2007) Late coronary stent thrombosis. *Circulation*; 116:1952-65.

65. YANG PC, MCCONNELL MV, NISHIMURA DG, HU BS. (2003) Magnetic resonance coronary angiography. *Curr Cardiol Rep.* 2003 Jan;5(1):55-62

## **7. Abkürzungsverzeichnis**

ACS	Acute Coronary Syndrome (akutes Koronarsyndrom)
ADP	Adenosindiphosphat
aHTN	Arterieller Hypertonus
AP	Angina Pectoris
ATP	Adenosintriphosphat
ASS	Acetylsalicylsäure
BMS	Bare Metal Stent
CAPRIE	Clopidogrel vs Aspirin in patients at risk of ischaemic events
CK-MB	Creatin-Kinase (Myokardtyp)
COX	Cyclooxygenase
DES	Drug Eluting Stent
DM	Diabetes Mellitus
EKG	Elektrokardiogramm
h-FABP	heart Fatty Acid Binding Protein
IP3	Inositoltriphosphat
KHK	Koronare Herzkrankheit
LV	Lävokardiographie
NSTEMI	Non st Segment Elevation Myocardial Infarction
PADA	Platelet Adhesion Assay



PCI	Perkutane Coronare Intervention
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
PTCA	Perkutane Transluminale Coronare Angioplastie
STEMI	st Segment Myocardial Infarction
TGF	Transforming Growth Factor
WHO	World Health Organisation

## **8. Danksagungen**

Ich möchte mich bei Herrn Professor Dr. Meinertz für die Möglichkeit zur Arbeit an diesem hochinteressanten Projekt bedanken.

Ganz besonders möchte ich Frau Dr. Britta Goldmann danken. Du hast mich und diese Arbeit im besten Wortsinne betreut, standest immer mit hervorragenden Ideen und Ratschlägen zur Seite. Dein Wissen, Deine Geduld und Dein tolles Wesen fordern meine Hochachtung.

Liebe Sabine Gerth, ohne Dich wäre die Arbeitsgruppe „Early marker“ nur eine weitere Arbeitsgruppe irgendeiner Universitätsklinik, mit Dir ist Sie eine Verschwörung!

Ich danke Herrn Eik Vetorrazzi aus dem Institut für Biometrie des UKE für die Unterstützung bei der statistischen Aufarbeitung der Daten.

Ich möchte den weiteren Mitgliedern der Arbeitsgruppe danken: Herrn Wulf „Papa“ Lehmann, der zugleich einer meiner besten Freunde ist.

Frau Ann-Kathrin Holle, die jetzt Kinderherzen höher schlagen lässt!

Herrn Matti Adam, der zu viel arbeitet und nach der Arbeit noch Hilfestellungen für Neurochirurgen leisten muss und Frau Dr. Michelle Ortak.

Svenja Ehlers, Dir danke ich dafür, dass Du alles bist, was ich brauche!

Ich danke meiner Schwester Hana und meiner Mutter Sabine, die immer für mich da sein werden und meinem Vater Wolfgang, der immer bei mir ist.

## **9. Lebenslauf**

### **Persönliche Daten**

Geburtsdatum	08.01.1979
Geburtsort	Henstedt-Ulzburg
Familienstand	ledig

### **Ausbildung und Beruf**

11/07-heute	Neurochirurgie, UKE
04/01-10/07	Studium der Humanmedizin
11/00-04/01	Studium der Stadplanung
07/89-07/99	Lise Meitner-Gymnasium, Norderstedt

### **Praktisches Jahr**

08/06-10/06	Nepean Hospital, Penrith Australien, Dept. Of Oncology
11/06-12/06	Albertinen Krankenhaus, Hamburg, Kardiologie
12/06-04/07	UKE Hamburg, Neurochirurgie
04/07-07/07	Asklepios Klinik St. Georg Hamburg, Unfallchirurgie

## **10. 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.