

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Onkologisches Zentrum

II. Medizinische Klinik und Poliklinik (Onkologie, Hämatologie und
Knochenmarktransplantation mit Sektion Pneumologie)

Direktor: Prof. Dr. Carsten Bokemeyer

**Doppelte Aggregationshemmung vor neuroradiologischen Interventionen:
Vergleich zweier Testsysteme zur Überprüfung der ASS- und Clopidogrel-Response**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
an der medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:

Julia Tomada, geb. in Münster

Hamburg, 2019

Angenommen von der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 10.01.2020

Veröffentlicht mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. Florian Langer

Prüfungsausschuss: zweite/r Gutachter/in: Prof. Dr. Dr. Thomas Renné

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Duale Thrombozytenaggregationshemmung	1
1.2 ASS- und Clopidogrel-Resistenz	1
1.3 Ziele der Arbeit	2
1.4 Acetylsalicylsäure (ASS)	2
1.4.1 Dosierung.....	2
1.4.2 Effektivität	3
1.4.3 Kontraindikationen, Nebenwirkungen und Wechselwirkungen.....	3
1.4.4 Wirkung.....	4
1.5 Clopidogrel	6
1.5.1 Indikation und Effektivität.....	6
1.5.2 Kontraindikationen, Nebenwirkungen und Wechselwirkungen.....	6
1.5.3 Wirkung.....	7
1.6 Kombination: ASS und Clopidogrel	8
1.7 Definition Resistenz	9
1.7.1 Therapieversagen	9
1.7.2 Resistenz oder <i>Low-Response</i>	9
1.7.3 Response Variabilität	10
1.8 Messung von Resistenz	10
1.8.1 Lichttransmissionsaggregometrie	10
1.8.2 VerifyNow®	11
1.8.3 Impedanz Aggregometrie (Multiplate®)	11
1.8.4 Platelet Function Analyzer (PFA-100®).....	12
1.8.5 Serum Thromboxan B ₂	15
1.9 Resistenzen	16
1.9.1 ASS-Resistenz.....	16
1.9.2 Clopidogrel-Resistenz	24
1.9.3 Zusammenfassung.....	32
1.9.4 Plättchenfunktionsanalyse zur Identifikation einer Resistenz.....	32
2. Material und Methoden	37
2.1 Patientenkollektiv	37
2.2 Einschlusskriterien	37
2.3 Ausschlusskriterien	37

2.4 Laborgewinnung und Methodendurchführung	38
2.4.1 LTA	38
2.4.2 PFA-100®	39
2.5 Referenzmethoden und Richtwerte	39
2.5.1 ASS-Response.....	39
2.5.2 Clopidogrel-Response.....	40
2.6 Beurteilung der Laborergebnisse	40
2.7 Bestimmung von Risikofaktoren	41
2.8 Nachbeobachtung (<i>Follow-up</i>)	41
2.9 Statistische Analyse	41
3. Ergebnisse	42
3.1 Patientencharakteristika	42
3.1.1 Demographische Daten.....	43
3.1.2 Kardiovaskuläre Vorerkrankungen	43
3.1.3 Andere Begleiterkrankungen	43
3.1.4 Begleitmedikation	43
3.2 Resistenz-Häufigkeiten	44
3.3 Subgruppenanalyse	44
3.3.1 ASS-Resistenz-Messung.....	44
3.3.2 Clopidogrel-Resistenz-Messung.....	47
3.4 Vergleich von anderen relevanten Laborergebnissen	51
3.5 Variabilität der Plättchenantwort unter ASS	52
3.5.1 Variabilität der Plättchenantwort unter ASS: LTA	52
3.5.2 Variabilität der Plättchenantwort unter ASS: PFA-100®	53
3.6 Variabilität der Plättchenantwort unter Clopidogrel	54
3.6.1 Variabilität der Plättchenantwort unter Clopidogrel: LTA.....	54
3.6.2 Variabilität der Plättchenantwort unter Clopidogrel: PFA-100®.....	55
3.7 Korrelation der Testmethoden	56
3.7.1 ASS-Resistenz-Messung.....	56
3.7.2 Clopidogrel-Resistenz-Messung.....	57
3.8 Klinisches Ergebnis	58
3.8.1 ASS-Resistenz: Klinisches Ergebnis nach auffälligem PFA-100®-Test mit Kollagen/Epinephrin	59
3.8.2 Clopidogrel-Resistenz: Klinisches Ergebnis nach auffälliger LTA mit 2 µM ADP	59
3.8.3 Clopidogrel-Resistenz: Klinisches Ergebnis nach auffälliger PFA-100® (ADP/PGE1).....	60

3.9 Therapiemanagement	61
4. Diskussion	63
4.1 Identifikation einer Resistenz	64
4.1.1 Prävalenz und Variabilität der Plättchenantwort	64
4.1.2 Korrelation der Testmethoden	67
4.2 Identifikation von demographischen und klinischen Einflussfaktoren	68
4.2.1 ASS-Resistenz.....	68
4.2.2 Clopidogrel-Resistenz	70
4.3 Therapiemanagement	72
4.3.1 Therapiemodifikation nach erhöhter Plättchenaktivität unter ASS-Einnahme...73	
4.3.2 Präventive Modifikationen der Begleitmedikation unter ASS-Einnahme	74
4.3.3 Therapiemodifikation nach erhöhter Plättchenaktivität unter Clopidogrel- Einnahme.....	74
4.3.4 Präventive Modifikationen der Begleitmedikation unter Clopidogrel-Einnahme75	
5. Zusammenfassung	76
6. Summary	78
7. Abkürzungsverzeichnis	80
8. Abbildungsverzeichnis	82
9. Tabellenverzeichnis	84
10. Bibliografie	85
11. Danksagung	101
12. Lebenslauf	102
13. Eidesstattliche Erklärung	103

1. Einleitung

1.1 Duale Thrombozytenaggregationshemmung

Kardiovaskuläre Erkrankungen spielen im einundzwanzigsten Jahrhundert die größte Rolle als Ursache von Morbidität und Mortalität (Campo, Fileti et al. 2010). Die pharmakologische Hemmung der Thrombozytenfunktion ist Standard in der (Rezidiv-) Prophylaxe kardio- und zerebrovaskulärer Ereignisse. Wichtigste Medikamente dieser Indikation sind Acetylsalicylsäure (ASS) und Antagonisten des ADP-Rezeptors P2Y₁₂ (z.B. Clopidogrel) (Campo, Fileti et al. 2010). Eine duale Hemmung der Thrombozytenfunktion ist ein wichtiger Bestandteil der Therapie von Patienten mit akutem Koronarsyndrom und der Prävention von thrombembolischen Ereignissen bei Patienten, bei denen eine perkutane Gefäßintervention wie z.B. eine koronare Stentangioplastie oder ein Coiling eines intrakraniellen Aneurysmas durchgeführt wird (Gurbel and Tantry 2007, Masuhr and Busch 2012). Umfangreiche Metaanalysen der *Antithrombotic Trialist Collaboration* (ATC) mit über 200.000 Patienten zeigten eine 22 %ige relative Risikoreduktion für den Tod und ernsthafte ischämische vaskuläre Ereignisse mittels Acetylsalicylsäure (Collaboration 2002). Studien zur Clopidogrel-Wirkung (*CAPRIE*, *CURE*, *PCI-CURE*, *CREDO*) belegten ebenso die klinische Effizienz zur Reduktion von ischämischen Schlaganfällen, Myokardinfarkten und vaskulärem Tod (Committee 1996, Mehta and Yusuf 2000, Mehta, Yusuf et al. 2001, Steinhubl, Berger et al. 2002).

1.2 ASS- und Clopidogrel-Resistenz

Obwohl das Konzept einer ASS-Resistenz umstritten ist, scheint die üblicherweise eingesetzte Dosis von 100 mg/Tag nicht bei allen Patienten gleich wirksam zu sein. Zudem ist bekannt, dass in 4-30 % der Fälle die Standarddosis von Clopidogrel (75 mg/Tag) zu keiner ausreichenden Hemmung des P2Y₁₂-Rezeptors führt (Nguyen, Diodati et al. 2005). Die Gründe hierfür sind multifaktoriell und können neben einer verminderten Resorption, eine eingeschränkte hepatische Bioaktivierung oder eine ungenügende Wirksamkeit des aktiven Metaboliten am P2Y₁₂-Rezeptor sein (Fontana, Gaussem et al. 2003, Bonello, Tantry et al. 2010). Verschiedene Studien befassen sich mit dieser Problematik und fanden

in der Thrombozytenfunktionsdiagnostik Hinweise dafür, dass ein vermindertes Ansprechen auf Aggregationshemmer ursächlich für negative Ereignisse sein könnte (Gurbel and Tantry 2007). Aus diesem Grund hat die Überprüfung der Wirksamkeit von ASS und Clopidogrel im klinischen Behandlungsalltag zunehmend an Bedeutung gewonnen.

1.3 Ziele der Arbeit

Am UKE erhalten Patienten eine Woche vor einer elektiven zerebrovaskulären Intervention (z.B. Stenting einer kritischen Gefäßstenose oder Ausschaltung eines inzidentellen Aneurysmas mittels Coiling oder Flow-Diverter) standardmäßig eine doppelte Aggregationshemmung mit ASS 100 mg und Clopidogrel 75 mg täglich. Die meisten dieser Patienten stellen sich vor der elektiven Intervention in der Gerinnungsambulanz zur Überprüfung der ASS- und Clopidogrel-Wirkung vor. Dabei kommen zwei Testsysteme zum Einsatz: Die PFA-100[®] (sog. In-vitro-Blutungszeit) und die Lichttransmissionsaggregometrie (LTA). Während der PFA-100[®]-Test mit deutlich weniger Zeit- und Personalaufwand verbunden ist, gilt die LTA als Goldstandard in der Thrombozytenfunktionsdiagnostik.

Primäres Ziel der Arbeit ist es, den PFA-100[®]- Test und die LTA hinsichtlich der Identifikation von Patienten mit ungenügender ASS- und/oder Clopidogrel-*Response* miteinander zu vergleichen. Sekundäres Ziel ist die Identifikation von demographischen und klinischen Einflussfaktoren, die mit einer ungenügenden Plättchenhemmung gegenüber den beiden Medikamenten einhergehen. Schlussendlich soll untersucht werden, welche Konsequenzen eine insuffiziente Hemmung der Thrombozytenfunktion für das Management der Patienten hat.

1.4 Acetylsalicylsäure (ASS)

1.4.1 Dosierung

ASS (z.B. Aspirin[®]) wird zur (Rezidiv-)Prophylaxe ischämischer Ereignisse in einer

Dosierung von 100-300 mg/Tag eingenommen (Largieadèr 2013). Mehre Studien befassten sich mit der optimalen Dosierung: Eine große Metaanalyse der ATC mit 195 randomisierten Studien zeigte, dass unter der Dosis von 75-150 mg/Tag eine Risikoreduktion erreicht wird, die mit derjenigen unter 150-325 mg/Tag identisch ist (Collaboration 2002). Die *Dutch TIA Studie* fand eine ähnliche Effektivität: Bereits bei 30 mg/Tag ist dieselbe Risikoreduktion zu beobachten, wie unter der Dosis von 283 mg/Tag (Group 1991). Die *European Stroke Prevention Study-2* (ESPS-2) zeigte, dass die Einnahme von 50 mg ASS pro Tag zu einer 18 %igen Schlaganfallrisikoreduktion führte (Diener, Cunha et al. 1996). Dies wird durch die laboranalytische Beobachtung gestützt, dass 30 mg ASS für eine komplette Suppression der Thromboxan A₂ Produktion ausreichend sind (Patrono, Garcia Rodriguez et al. 2005). Schlussendlich wird von den aktuellen Leitlinien der *American College of Chest Physicians* eine Low-Dose-Therapie von 75-100 mg ASS pro Tag zur suffizienten Suppression empfohlen (Lansberg, O'Donnell et al. 2012).

1.4.2 Effektivität

ASS reduziert im Vergleich zu Placebo das Risiko für einen nicht-letalen Schlaganfall um 25 % (Collaboration 2002). Das Risiko für einen sekundären Schlaganfall, Myokardinfarkt oder vaskulären Tod wird um 22 % gesenkt (Collaboration 2002). Der Nutzen der Medikation ist dabei unabhängig vom Geschlecht, Alter, einer Diabeteserkrankung oder von einer Hypertonie (Collaboration 2002).

1.4.3 Kontraindikationen, Nebenwirkungen und Wechselwirkungen

Kontraindikationen der ASS-Einnahme sind Magen-Darm-Ulzera, allergische Reaktionen auf Salicylate, schwere Leber- oder Niereninsuffizienz und jede angeborene oder erworbene Gerinnungsstörung (Largieadèr 2013). Relative Kontraindikationen sind Asthma bronchiale und eine Hypakusis (Largieadèr 2013).

Zu den Nebenwirkungen zählen bei > 10 % der behandelten Patienten gastrointestinale Beschwerden: Vor allem Magenschmerzen und Mikroblutungen (Largieadèr 2013). Bei

höheren Dosierungen können Übelkeit, Erbrechen, Durchfälle, gastrointestinale Ulzera, Eisenmangelanämien, Kopfschmerzen und Schwindel entstehen (Largieadèr 2013). Bei weniger als 1 % kommt es zu Störungen des Säure-Basen-Haushaltes, der Natrium und Wasser-Retention mit infolge auftretenden Ödemen und zu einer Erhöhung der Harnsäureretention (Largieadèr 2013). Zudem können Hör- und Sehstörungen, Verwirrheitszustände, Somnolenz, allergische Hauterscheinungen, Bronchospasmen, ein anaphylaktischer Schock, Thrombozytopenie, Leukozytopenie, Agranulozytose, Panzytopenie und eine aplastische Anämie auftreten (Largieadèr 2013). Das Risiko für Blutungen, vor allem schwere gastrointestinale Blutungen und intrakranielle Blutungen, ist unter Einnahme von ASS 75-325 mg/Tag im Vergleich zu Placebo 1,7- bis 2,1-fach erhöht (McQuaid and Laine 2006). Höhere Dosen rufen mehr gastrointestinale Blutungen hervor: 1,6 % bei Placebo, 2,6 % unter 300 mg ASS und 4,7 % unter 1.200 mg ASS täglich (Farrell, Godwin et al. 1991). Eine niedrige ASS Dosis von ≤ 200 mg/Tag ist assoziiert mit signifikant weniger schweren Blutungen (Serebruany, Steinhubl et al. 2005).

Wechselwirkungen werden bei der Anwendung mit Valproinsäure und Antikoagulanzen in Form einer erhöhten Blutungsgefahr beobachtet (Largieadèr 2013). Bei der simultanen Anwendung von Barbituraten treten zudem erhöhte Spiegel des Medikaments auf (Largieadèr 2013). Bei gleichzeitiger Verwendung von Sulfonylharnstoffen besteht die Gefahr einer Hypoglykämie (Largieadèr 2013).

1.4.4 Wirkung

Wird ein Gefäß verletzt, liegen subendotheliales Kollagen und der von-Willebrand-Faktor (vWF) frei, an die im Blut zirkulierende Thrombozyten binden können. Die Bindung wird über die Gylkoproteine Ia/IIa (Kollagen) und Ib (vWF) vermittelt. Diese Adhäsion stimuliert wiederum die Aktivierung der Thrombozyten, die daraufhin ihre Form ändern und intrazelluläres Calcium freisetzen. Dieses hat zur Folge, dass Integrin- IIb/IIIa seine Konformation ändert, sodass Fibrinogen gebunden werden kann. Zudem werden bioaktive Moleküle wie z.B ADP freigesetzt, die Thrombozyten in der Umgebung aktivieren. Des Weiteren wird die Phospholipase A₂ stimuliert, die daraufhin Arachidonsäure produziert. Arachidonsäure ist das Substrat zur Produktion von Thromboxan A₂, das über die Bindung

an den Thromboxan A₂-Rezeptor im Sinne einer autokrinen Stimulation dazu beiträgt, dass mehr Fibrinogen-Rezeptoren auf der Thrombozytenmembran aktiviert werden.

Thromboxan A₂ wird zudem in die Blutbahn freigesetzt, wo es die Aktivierung benachbarter Plättchen vermittelt. Ein weiterer Effekt ist, dass Thromboxan A₂ als potenter Vasokonstriktor wirkt (Hankey and Eikelboom 2006).

ASS entfaltet seine antiaggregatorische Wirkung durch irreversible Hemmung der Cyclooxygenase-1 (COX-1), die durch eine Acetylierung von Serin an Position 529 umgesetzt wird und somit zu einer reduzierten Thromboxan A₂-Produktion der Plättchen führt (Bhatt, Fox et al. 2006, Fitzgerald and Maree 2007, Largieadèr 2013). Thromboxan A₂ wird zum inaktiven Metaboliten 11-Dehydro-Thromboxan abgebaut und über den Urin ausgeschieden (Abbildung 1) (Ben-Dor, Kleiman et al. 2009). Auch bei niedrigen Dosen von 80-160 mg/Tag wird die Blutungszeit verlängert (Largieadèr 2013). Dieser Effekt hält 7-10 Tage an, bis die irreversibel gehemmten Thrombozyten vollständig durch funktionstüchtige ersetzt sind (Largieadèr 2013).

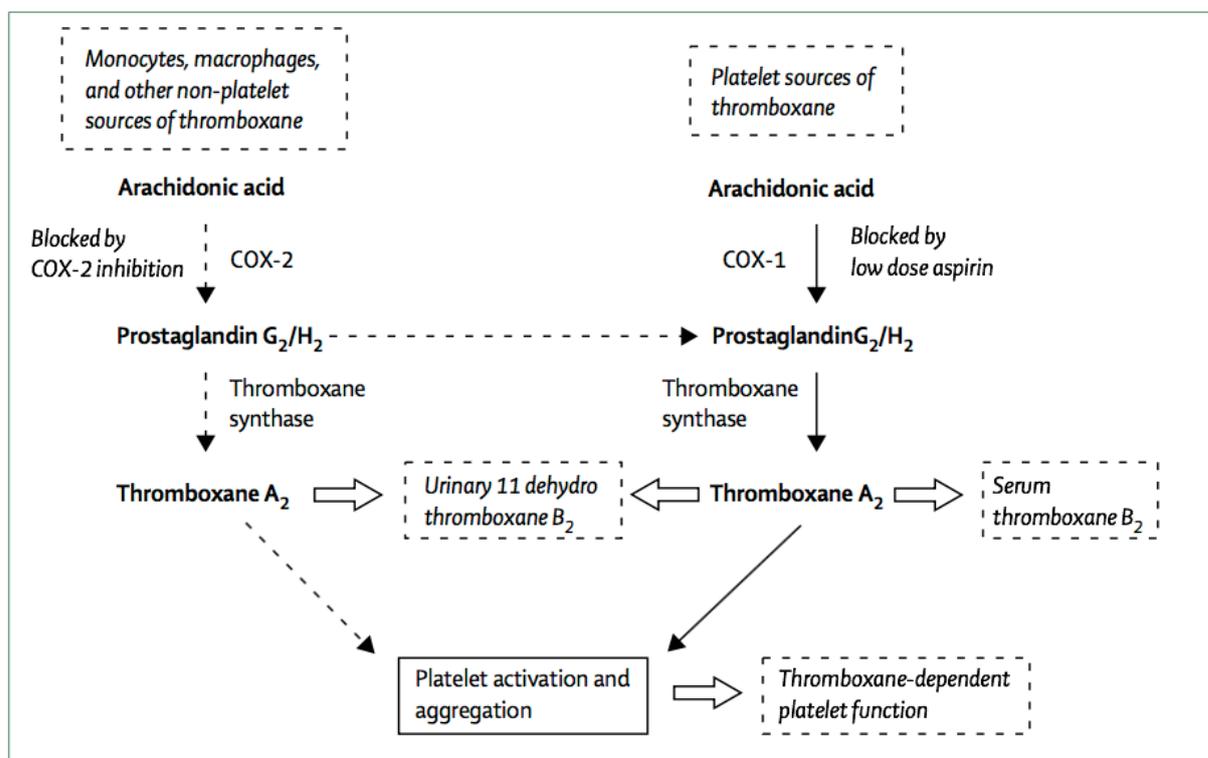


Abbildung 1: Wege der Thromboxan-Produktion und Effekt von ASS - Hankey G.J. and J. W. Eikelboom (2006)

ASS wird zu über 90 % intestinal resorbiert und hat eine orale Bioverfügbarkeit von circa 40-50 % (Largieadèr 2013). Der maximale Plasmaspiegel wird nach 30-40 Minuten erreicht (Largieadèr 2013). Bei einer Plasmaproteinbindung von 70-90 % beträgt die Halbwertszeit 10-20 Minuten und die des Metaboliten Salicylsäure dosisabhängig 3-5 Stunden (Largieadèr 2013). ASS wird zu 80 % hepatisch und zu 20 % renal eliminiert (Largieadèr 2013). Die renale Elimination kann durch Alkalisierung des Urins auf bis zu 80 % gesteigert werden (Largieadèr 2013).

1.5 Clopidogrel

1.5.1 Indikation und Effektivität

Clopidogrel wird zur Therapie und Prävention atherothrombotischer (Rezidiv-)Ereignisse z.B. nach akutem Koronarsyndrom oder ischämischem Schlaganfall eingesetzt (Largieadèr 2013). Die Substanz reduziert das Risiko von Myokardinfarkt und kardiovaskulären Tod um 31 % (Mehta, Yusuf et al. 2001, Steinhubl, Berger et al. 2002). Bei akutem Koronarsyndrom und einer geplanten Stenteinlage werden 300 bis 600 mg zur Aufsättigung verabreicht (Mehta, Bassand et al. 2010). Danach wird die Therapie mit 75 mg täglich fortgeführt (Largieadèr 2013).

Die CAPRIE-Studie an 19.185 Patienten mit akutem Schlaganfall, Myokardinfarkt, oder symptomatischer, peripherer arterieller Verschlusskrankheit (pAVK) zeigte, dass 75 mg Clopidogrel im Vergleich zu 325 mg ASS das Risiko für Schlaganfall, Myokardinfarkt oder vaskulären Tod um 8,7 % reduziert (Committee 1996).

1.5.2 Kontraindikationen, Nebenwirkungen und Wechselwirkungen

Kontraindikationen gegenüber der Einnahme von Clopidogrel sind akute gastrointestinale Blutungen, ZNS-Blutungen und schwere Leberfunktionsstörungen; eine relative Kontraindikation ist ein Alter unter 16 Jahren (Largieadèr 2013).

Zu den Nebenwirkungen gehören bei > 10 % der Anwender gastrointestinale-Symptome,

Hautausschläge, Pruritus, Kopfschmerzen, Benommenheit, Schwindel, oder Parästhesien (Largieadèr 2013). Bei 1-10 % der Patienten treten Blutungen, schwere Blutungen im Gastrointestinaltrakt oder intrakraniell, Leber- und Gallensekretionsstörungen, Ödeme, Bluthochdruck oder Hypercholesterinämie auf (Largieadèr 2013). Weniger als 0,5 % der Patienten erleiden schwere Thrombozytopenien, Anämien oder schwere Neutropenien (Largieadèr 2013). Im Vergleich zu ASS treten Exantheme und Diarrhöen vermehrt auf, während sich gastrointestinale Nebenwirkungen etwas seltener zeigen (Committee 1996).

Wechselwirkungen bestehen mit Protonenpumpenhemmern und CYP2C19-Inhibitoren (Fluvoxamin, Fluoxetin, Moclobemid, Variconazol, Fluconazol, Riclopidin, Ciprofloxacin, Cimetidin, Carbamazepin, Oxacarbazepin, Chloramphenicol), die die Wirksamkeit von Clopidogrel herabsetzen (Largieadèr 2013). Bezüglich Blutungskomplikationen ist besondere Vorsicht in Kombination mit Antikoagulantien, Fibrinolytika und ASS geboten (Largieadèr 2013).

1.5.3 Wirkung

Clopidogrel ist ein *Prodrug* aus der Gruppe der Thienopyridine (Largieadèr 2013). Es wird in seinen aktiven Metaboliten 2-Oxo-Clopidogrel über das Cytochrom-P450-System umgewandelt und wirkt dann als selektiver, irreversibler Hemmer des thrombozytären ADP-Rezeptors P2Y₁₂, wodurch die Plättchenaggregation gehemmt wird (Largieadèr 2013).

Clopidogrel wird rasch resorbiert und wirkt bereits ab dem ersten Tag der Einnahme (Largieadèr 2013). Die maximale Wirkdauer beträgt 3-6 Tage, die allgemeine Wirkdauer 7-10 Tage (Largieadèr 2013). Die Halbwertszeit beträgt ca. 6 Stunden und die Plasmaproteinbindung liegt bei über 90 % (Largieadèr 2013). Clopidogrel wird nach hepatischer Metabolisierung innerhalb von 120 h über Fäzes und Urin ausgeschieden (Largieadèr 2013).

1.6 Kombination: ASS und Clopidogrel

Die duale Plättchenhemmung mit ASS und Clopidogrel wird bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom oder Schlaganfall, zur Sekundärprävention, sowie bei Patienten, bei denen eine perkutane transluminale Koronarangioplastie (PTCA) oder eine Embolisation von intrakraniellen Aneurysmen durchgeführt wird, eingesetzt (Gurbel and Tantry 2007, Masuhr and Busch 2012). Der Vorteil einer dualen Plättchenhemmung konnte durch die *CURE-Studie* belegt werden, die an 12.562 Nicht-ST-Hebungsinfarkt-Patienten (NSTEMI) zeigte, dass die Kombination von ASS und Clopidogrel zu einer signifikanten Reduktion von kardiovaskulärem Tod, Myokardinfarkt, oder Schlaganfall im Vergleich zu ASS allein führt (9,3 % vs. 11,4 %) (Yusuf, Zhao et al. 2001).

Die Indikation zur kombinierten Einnahme sollte jedoch vor allem in der Langzeitanwendung, unter Abwägung von Nutzen und Risiko, sorgfältig überprüft werden, wie folgende Studien zeigen:

Die *MATCH-Studie* mit 7.599 Schlaganfall-, oder TIA Patienten und zusätzlichem Hochrisikoprofil (Myokardinfarkt, Schlaganfall, Diabetes, Angina pectoris, oder symptomatischer pAVK) zeigte, dass die duale Plättchenhemmung über 18 Monate (ASS und Clopidogrel) nach Schlaganfall nicht das Risiko für schwere vaskuläre Ereignisse im Vergleich zu Clopidogrel allein reduziert (relative Risikoreduktion um 6,4 %, 95 % KI -4,6 bis 16,3) (Diener, Bogousslavsky et al. 2004). Clopidogrel in Kombination mit ASS ist mit lebensbedrohlichen Blutungen (v.a. intrakraniell und gastrointestinal) assoziiert. Über einen 18-monatigen Zeitraum traten 1,3 % mehr lebensbedrohliche Blutungen (95 % KI 0,6-1,9) und 1,3 % mehr schwere Blutungen bei Patienten mit dualer Plättchenhemmung auf (Diener, Bogousslavsky et al. 2004). Zusammenfassend zeigte die *MATCH-Studie*, dass zwar 10 ischämische Ereignisse pro 1.000 behandelter Patienten mit einer dualen Plättchenhemmung präventiv verhindert werden konnten, zugleich aber 13 lebensbedrohlichen Blutungen pro 1.000 behandelter Patienten unter der doppelten Aggregationshemmung auftraten (Diener, Bogousslavsky et al. 2004).

Auch die *CHARISMA-Studie* untersuchte, welchen Nutzen Clopidogrel (75 mg/d) in Kombination mit ASS (75-162 mg/Tag) im Vergleich zu ASS allein hat (Bhatt, Fox et al. 2006). 15.603 Patienten mit kardiovaskulärer Erkrankung (koronar, ischämisch

zerebrovaskulär, oder peripher arteriell) wurden in die Studie eingeschlossen (Bhatt, Fox et al. 2006). Während einer 28-monatigen Nachbeobachtungszeit zeigte sich auch hier, dass eine Kombination von ASS und Clopidogrel, im Vergleich zu ASS allein, keine langfristige Risikoreduktion in Bezug auf die primären Endpunkte Myokardinfarkt, Schlaganfall, oder kardiovaskulärem Tod mit sich bringt (6,8 % versus 7,3 %, relatives Risiko 0,93; 95 % KI 0,83-1,05) (Bhatt, Fox et al. 2006). Wie in der *MATCH*-Studie, konnte auch hier aufgeführt werden, dass die langfristige Kombination eine größere Gefahr birgt, moderate (2,1% versus 1,3 %) bis schwere Blutungen (1,7 % versus 1,3 %) zu erleiden (Bhatt, Fox et al. 2006).

Die Studien erbrachten demnach den Nachweis, dass eine duale Plättchenhemmung mit ASS und Clopidogrel über einen längeren Zeitraum nicht zu einer signifikanten Risikoreduktion für kardiovaskuläre Ereignisse führt, jedoch zu mehr moderaten bis lebensbedrohlichen Blutungen, weshalb eine Langzeitbehandlung im Vergleich zur Kurzzeitbehandlung nicht als Standard empfohlen wird (Diener, Bogousslavsky et al. 2004, Bhatt, Fox et al. 2006).

1.7 Definition Resistenz

1.7.1 Therapieversagen

Das erneute Auftreten ischämischer kardiovaskulärer Ereignisse, trotz regulärer Einnahme der Plättchenhemmer, wird als Therapieversagen der medikamentösen Aggregationshemmung definiert (Michelson, Cattaneo et al. 2005, Ben-Dor, Kleiman et al. 2009). Der Begriff beschreibt somit eine klinische Beobachtung, deren Ursache in der multimodalen Therapie der Patienten meistens nicht auf Anhebung ausgemacht werden kann (Michelson, Cattaneo et al. 2005, Ben-Dor, Kleiman et al. 2009).

1.7.2 Resistenz oder *Low-Response*

Die Resistenz und die *Low-Response* ist ein laboranalytisches Phänomen, das nicht mit dem klinischen Therapieversagen gleichgesetzt werden kann (Michelson, Cattaneo et al.

2005). Sie können aber für einen Teil dieser Vorfälle (1 % - 45 %) ursächlich sein (Ben-Dor, Kleiman et al. 2009). In der Literatur werden die Begriffe „*Low-Response*“ und „Resistenz“ simultan verwendet, weshalb es in dieser Arbeit so fortgeführt wurde. Genauer aber beschreibt die Resistenz, die Unfähigkeit eines Medikaments, das pharmakologische Target zu inhibieren (z.B. Mutation im P2Y₁₂-Rezeptor, oder im COX-1-Enzym) und die *Low-Response* die ungenügende Plättchenhemmung durch ein Medikament.

1.7.3 Response Variabilität

Der Begriff „*Response Variabilität*“ beschreibt eine inter- und intra-individuelle Variabilität der Plättchenantwort im Labor (Homoncik, Jilma et al. 2000, Ben-Dor, Kleiman et al. 2009).

1.8 Messung von Resistenz

1.8.1 Lichttransmissionsaggregometrie

Die Lichttransmissionsaggregometrie, nach dem Erstbeschreiber Born (*light transmittance aggregometry*=LTA) benannt, ist die älteste Methode, die Plättchenfunktion zu evaluieren und wird sowohl für die Überprüfung der ASS-, als auch der Clopidogrel-Wirkung als aktueller Goldstandard angesehen (Wang, Bhatt et al. 2006). Durch Zentrifugieren wird aus Vollblut plättchenreiches Plasma gewonnen. Anschließend wird die Aggregation der Thrombozyten durch verschiedene Aktivatoren gestartet. Die Verklumpung und anschließende Sedimentation der Plättchen führen zu einem Aufklaren der initial trüben Suspension, was sich photometrisch messen lässt (Ben-Dor, Kleiman et al. 2009). Dabei wird die Aufklärung der Trübung durch einen Lichtstrahl gemessen und in einer Kurve aufgezeichnet. Als Agonisten können zum Beispiel ADP (5, 10 oder 20 µmol/l) oder Arachidonsäure (0,5 mg/ml) verwendet werden (Ben-Dor, Kleiman et al. 2009). Entsprechend der Substanz und ihrer Konzentration wird der *Cut-off-Wert*, der die *Low-Response* definiert, angepasst (Ben-Dor, Kleiman et al. 2009). Die LTA ist arbeits- und zeitintensiv und muss in einem spezialisierten Labor durchgeführt werden (Wang, Bhatt et

al. 2006). Hinzukommend wird der Vergleich der Werte von verschiedenen Instituten durch Unterschiede in der verwendeten Technik erschwert (Nicholson, Panzer-Knodle et al. 1998, Michelson 2004).

1.8.2 VerifyNow®

Die VerifyNow®-Methode nutzt, ähnlich der Methode nach Born, die Lichttransmission, um Aggregation zu messen. Dabei wird Vollblut in eine Kartusche injiziert, die mit Fibrinogen beschichtete Kügelchen enthält (Smith, Steinhubl et al. 1999). Zusätzlich wird der jeweilige Agonist, entweder Arachidonsäure, oder ADP und Prostaglandin E₁ (PGE₁) hinzugegeben, der die Plättchenaktivierung durch den P2Y₁-Rezeptor supprimiert. Sobald Thrombozyten Kontakt mit dem Fibrinogen haben, aggregieren sie proportional zu den aktivierten GPIIb/GPIIIa-Rezeptoren (Paniccia, Priora et al. 2015). Während der Aggregation leuchtet ein Lichtstrahl durch die Probe, der verstärkt am anderen Ende der Probe gemessen wird, wenn Plättchen aggregieren (Paniccia, Priora et al. 2015). Die Aggregation wird in *Platelet Aggregation Units* (PAU) gemessen. Wird Arachidonsäure als Agonist verwendet, werden *Aspirin Reaction Units* (ARU) und im Fall von ADP *P2Y₁₂ Reaction Units (PRU) bzw. P2Y₁₂-Inhibition (%)* aufgezeichnet [34]. Die VerifyNow®-Methode eignet sich hervorragend als *Point-of-Care-Test* im kardiologischen Katheterlabor (Tantry, Bonello et al. 2013).

Zusätzlich ist es möglich, den inhibitorischen Effekt von GPIIb/IIIa-Antagonisten (z.B. Abciximab) über das System zu prüfen (Steinhubl, Talley et al. 2001). Die klinische Wertigkeit von VerifyNow® konnte durch verschiedene Studien belegt werden (Harrison, Segal et al. 2005, Paniccia, Antonucci et al. 2007, Price, Endemann et al. 2008, Marcucci, Gori et al. 2009, Breet, van Werkum et al. 2011, Jeong, Bliden et al. 2012, Angiolillo, Curzen et al. 2014).

1.8.3 Impedanz Aggregometrie (Multiplate®)

Bei der Impedanz-Aggregometrie wird Vollblut in eine Messküvette gefüllt, in der sich zwei Elektroden befinden. Durch Zugabe der Agonisten (ADP, oder Arachidonsäure) werden die Thrombozyten aktiviert, die dadurch an der artifiziellen Oberfläche der

Elektroden anhaften (Paniccia, Priora et al. 2015). Die elektrische Impedanz-Zunahme zeigt die Plättchenaggregation an und wird in Ohm festgehalten (Cardinal and Flower 1980). Vorteile der Impedanz Aggregometrie sind, dass nur kleine Mengen Blut benötigt werden, die vorher nicht zentrifugiert werden müssen (Paniccia, Priora et al. 2015). Zudem wird die Plättchenfunktion unter physiologischeren Bedingungen untersucht [34]. Eine der bedeutendsten Aspekte in der Anwendung ist jedoch, dass sie nicht nur Patienten identifizieren kann, die *Non-Responder*, sondern auch solche, die *Hyper-Responder* sind (Ranucci, Baryshnikova et al. 2011). Damit hat die Methode den Vorteil, das postoperative Blutungsrisiko einschätzen zu können (Rahe-Meyer, Winterhalter et al. 2009, Gorlinger, Shore-Lesserson et al. 2013, Malek, Klopotoski et al. 2014).

1.8.4 Platelet Function Analyzer (PFA-100®)

Der PFA-100®- Test simuliert die Verhältnisse in einem verletzten Blutgefäß. Hierfür wird nur relativ wenig Vollblut benötigt, das durch kleine Öffnungen einer Membran gesaugt wird, wodurch hohe Scherkräfte entstehen (Ben-Dor, Kleiman et al. 2009). Die Membran ist mit Kollagen beschichtet und enthält zudem entweder ADP oder Epinephrin (Paniccia, Antonucci et al. 2007). Thrombozyten binden an das Kollagen. ADP/Epinephrin lösen deren Degranulation aus, sodass weitere Plättchen an dem entstehenden Thrombus anhaften, die wiederum ADP und Epinephrin freisetzen. Die Verschlusszeit gibt die Zeit bis zum Verschluss der Membranöffnung durch den Plättchenthrombus an und wird mittels Drucksensor gemessen (Ben-Dor, Kleiman et al. 2009).

Es sind momentan drei unterschiedliche Membranen verfügbar:

1. **Kollagen/Epinephrin:** Die Kollagen/Epinephrin-Membran ist geeignet, alle Thrombozytenfunktionsstörungen zu detektieren. Da die Plättchenaktivierung durch Epinephrin über die Bildung von Thromboxan A₂ vermittelt wird, sollte die Verschlusszeit unter einer ASS-Einnahme typischerweise verlängert sein (Ulm 2010). Der Referenzbereich der Verschlusszeit bei Patienten ohne medikamentöse Aggregationshemmung und ohne von-Willebrand-Syndrom (vWS) liegt bei 85-165 Sekunden (Ulm 2010).

2. **Kollagen/ADP:** Auch die Kollagen/ADP-Membran ist geeignet, das vWS und angeborene Thrombozytopathien wie z.B. die Thrombasthenie Glanzmann, das Bernard-Soulier-Syndrom oder das Hermansky-Pudlak-Syndrom zu detektieren. Die Plättchenaktivierung durch Kollagen/ADP ist jedoch unabhängig von der Bildung durch Thromboxan A₂, sodass unter der Einnahme von ASS keine Abweichungen zu erwarten sind (Ulm 2010). Der Referenzbereich liegt bei 71-118 Sekunden (Ulm 2010).

3. **P2Y:** Die P2Y-Membran beinhaltet zusätzlich zu ADP PGE₁, das über eine gesteigerte cAMP-Produktion die thrombozytäre Calciummobilisation und somit die P2Y₁-vermittelte Plättchenaggregation hemmt. Dies hat zur Folge, dass die ADP-induzierte Plättchenaktivierung alleine von der Stimulierung des P2Y₁₂-Rezeptors abhängig ist (Ulm 2010). Dieses System ist erst seit kurzem verfügbar, weshalb nur begrenzte Informationen über den klinischen Nutzen zur Analyse der ADP-Rezeptor-Antagonisten vorliegen (Edwards, Jakubowski et al. 2012).

Folgende Tabelle des *Uniklinikums Ulm* zeigt die PFA-100[®] Verschlusszeiten und ihre Interpretation unter ASS- und Clopidogrel-Einnahme.

Interpretation der Ergebnisse:

	Normal	ASS	P2Y12-Hemmer (Clopidogrel)	vWS	Kongenitale Plättchenerkrankungen*
Col/Epi-Zelle	Normal	Verlängert	Normal	Verlängert	Verlängert
Col/ADP-Zelle	Normal	Normal	Normal	Verlängert	Verlängert
PFa P2Y-Zelle	Normal	Normal	Verlängert	unklar	unklar

*z.B. Glanzmann, Hermansky-Pudlak, Storage Disease, Bernard-Soulier (inkonstant).

Musterbeispiele:

Messzelle:	Col/Epi	Col/ADP	P2Y
Aspirin 100 mg/Tag	>300 Sekunden ¹	100 Sekunden ²	70 Sekunden
Clopidogrel (600mg+75mg)	156 Sekunden	105 Sekunden	>300 Sekunden ³
Clopidogrel+Aspirin	>300 Sekunden	>300 Sekunden ⁴	>300 Sekunden
Erworbenes vWS 2(a) mit vWF von 344% (!) und Niereninsuffizienz.	>300 Sekunden	>300 Sekunden	>300 Sekunden

¹Aktivierung durch Epinephrin braucht gleichzeitige Aktivierung durch Thromboxan-A2.

²ADP ist ein starker Stimulus, Thromboxan-A2-unabhängig, wirkt über zwei Rezeptoren:

- Den ADP-P2Y1-Rezeptor, und den, schwächeren, ADP-P2Y12-Rezeptor.

- ³Im P2Y-Test ist der P2Y1 blockiert und es wird mit ADP nur der P2Y12-Rezeptor stimuliert.

⁴Bei gleichzeitiger Gabe von Aspirin und Clopidogrel reicht der ADP-Stimulus nicht mehr aus um die Thromboxan-A2-Hemmung auszugleichen.

Eine Zeit >300 Sekunden zeigt eine vollständige und gute Blockierung jeweiligen Funktion/Rezeptor an. Zeiten über den jeweiligen Grenzwerten zum Normalbereich zeigen eine gestörte Aggregation an. Der Wertebereich zwischen dem Grenzbereich und 300 Sekunden drückt nicht den Grad der Hemmung auf einer linearen- oder Vergleichsskala aus.

Abbildung 2: PFA-100[®] Verschlusszeiten und Interpretation - Uniklinikum Ulm (2010)

Die PFA-100[®] - Messung hat den Vorteil, dass sie eine hohe Sensitivität aufweist (Michelson 2004, Harrison, Segal et al. 2005). Zudem zeigt sie in einigen Studien eine hohe Übereinstimmung mit den Ergebnissen der LTA (McGlasson and Fritsma 2009). Von Nachteil ist jedoch, dass die Methodik von verschiedenen Einflussfaktoren abhängig ist

wie z.B. Plättchenzahl, Hämatokrit und Thrombozytopathien (Edwards, Jakubowski et al. 2012).

1.8.5 Serum Thromboxan B₂

Das im Serum enthaltene Thromboxan B₂ ist abhängig von der Thrombozytenaktivierung, die durch das Enzym COX-1 vermittelt wird. COX-1 wird irreversibel durch ASS gehemmt, weshalb unter der Einnahme von ASS die Konzentration von Thromboxan B₂ im Serum vermindert ist. Im Urin kann zudem der Metabolit 11-Dehydro-Thromboxan B₂ gemessen werden, wobei das Ergebnis an die Kreatinin-Konzentration angepasst werden sollte (Ben-Dor, Kleiman et al. 2009).

Folgende Tabelle fasst die verschiedenen Methoden zusammen:

Laboratory Method	Mechanism	Advantages	Disadvantages
Monitor aspirin and clopidogrel response LTA	Agonist (AA or ADP)	Considered gold standard, widely investigated	Immediate processing, time-consuming, cannot be run at bedside, variable results depending on reagents used
VerifyNow rapid platelet function assay	Agglutination of fibrinogen-coated beads, point-of-care assay	Allows for bedside analysis, easy to use and rapid	No instrument adjustment
Thromboelastography	Platelet contribution to clot shear elasticity	Point of care, whole-blood assay	Limited studies
Monitor aspirin response PFA-100	Cessation of blood flow by platelet plug	Bedside, easy and rapid whole-blood assays	Depends on von Willebrand factor and hematocrit, platelet count
Serum thromboxane B ₂	Platelet release factors	COX-1 dependent	Indirect, not platelet specific
Urinary 11-dehydro-thromboxane B ₂	Platelet release factors	COX-1 dependent	Indirect, not platelet specific, depends on renal function
Monitor clopidogrel response VASP phosphorylation	Intracellular signaling	Specify for P ₂ Y ₁₂ , stability	Expensive, requires flow cytometer

AA = arachidonic acid; VASP = vasodilator-stimulated phosphoprotein.

Abbildung 3: Labormethoden der Plättchenfunktionsanalyse - Ben-Dor (2009)

Die nachstehende Tabelle zeigt Richtwerte in der Literatur zur Bestimmung der ASS- und Clopidogrel-Resistenz in den verschiedenen Plättchenfunktionsanalysen und in der Messung von 11-Dehydro-Thromboxan B₂ im Urin.

Labormethode	ASS-Resistenz	Clopidogrel-Resistenz
LTA (Arachidonsäure 0,5 mg/ml (1,6 mmol/l))	≥ 20 %	-
VerifyNow® (ASS)	> 550 Aspirin Reaction Units	-

PFA-100[®] (Kollagen/Epinephrin / ADP/PGE1)	< 193 Sekunden	< 106 Sekunden
11-Dehydro-Thromboxan B₂ (Urin)	≥ 67,9 ng/mmol	-
LTA (ADP)	-	≤ 10 % Reduktion gegenüber Basiswert oder > 46 % Aggregation bei 5μM ADP bzw. >59 % bei 20μM ADP
VerifyNow[®] (ADP)	-	≥ 240 ADP Reaction Units

Tabelle 1: Resistenz Richtwerte - Werte aus: Ben-Dor (2009); Tsantes (2013)

1.9 Resistenzen

1.9.1 ASS-Resistenz

1.9.1.1 Definition und Prävalenz

Die „klassische“ ASS-Resistenz, ist die chemische Unfähigkeit von ASS, das Enzym COX-1 zu acetylieren (Kovacs, Katona et al. 2014). Während die *Low-Response* gegenüber ASS auf laboranalytischen Tests beruht, beschreibt der Begriff der klinischen ASS-Resistenz die Situation, in der ein Patient durch die Einnahme von ASS nicht ausreichend vor vaskulären Ereignissen geschützt ist (Kovacs, Katona et al. 2014). Eine einheitliche Definition, wann eine *Low-Response* oder eine Resistenz besteht, gibt es auch hier nicht. Allgemein anerkannt ist jedoch der Begriff der ASS-Resistenz, wenn laboranalytisch eine inkomplette Suppression der Plättchenaggregation trotz ASS-Einnahme vorliegt (Lordkipanidze, Pharand et al. 2007). In dieser Arbeit wird somit hauptsächlich von einer ASS-Resistenz gesprochen, wenn eine inadäquate Plättchenhemmung im Labor auftrat.

Die Prävalenz der laboranalytischen ASS-Resistenz liegt bei circa 4,0-59,5 % (Lordkipanidze, Pharand et al. 2007). Studien veranschaulichen, dass die Prävalenz

abhängig vom angewendeten Test ist. So zeigte sich z.B. bei 201 Patienten mit stabilem Koronarsyndrom, unter der täglichen Einnahme von ≥ 80 mg ASS/Tag, bei 4 % der Patienten eine Resistenz, wenn diese mit Hilfe der LTA unter Verwendung von Arachidonsäure gemessen worden war (Lordkipanidze, Pharand et al. 2007). Für die anderen Tests fanden sich die folgenden Werte: LTA mit ADP 10,3 %-51,7 %, PFA-100® 59,5 %, VerifyNow Aspirin® 6,7 % und 11-Dehydrothromboyan B₂ Konzentration im Urin 22,9 % (Lordkipanidze, Pharand et al. 2007). Routinelabortestungen zeigen starke intra- und interindividuelle Unterschiede und scheinen somit nicht gleichermaßen effektiv zu sein, sodass ihr klinischer Aussagewert kritisch überprüft werden muss (Lordkipanidze, Pharand et al. 2007, Kovacs, Katona et al. 2014).

1.9.1.2 Klinische Relevanz

Inwieweit sich klinische Ereignisse, wie z.B. ein Schlaganfall oder Herzinfarkt auf eine verminderte *ASS-Response* zurückführen lassen, ist Teil der heutigen Forschung.

In einer Fallserie wurden 326 Patienten mit stabiler KHK und einwöchiger Einnahme von 325 mg ASS pro Tag beobachtet. Das Ansprechen auf ASS wurde durch die LTA (Agonist: ADP und Arachidonsäure) *in vitro* überprüft. Bei 5,2 % der Patienten wurde eine ASS-Resistenz festgestellt. Während einer 1,9-jährigen Nachbeobachtung hatten diese Patienten ein signifikant höheres Risiko einen Myokardinfarkt oder Schlaganfall zu erleiden oder zu versterben (24 % vs. 10 %) (Gum, Kottke-Marchant et al. 2003).

Eine zweite Studie überprüfte die Rolle der ASS-Resistenz bei Patienten mit perkutaner Koronarintervention (PCI). Insgesamt 151 Patienten erhielten 80-325 mg ASS pro Tag, sowie einmalig 300 mg Clopidogrel 12-24 Stunden vor der Intervention. Bei 90 % der Patienten wurde ein Stent implantiert. Das Ansprechen auf ASS wurde mit Hilfe der VerifyNow-Aspirin®-Methode ermittelt. Bei 19 % der Patienten lag eine ungenügende *ASS-Response* vor. Diese Patienten hatten im Anschluss an die PCI eine signifikant erhöhte Inzidenz abnormer CK-MB- (52 % vs. 25 %) und Troponin I-Werte (66 % vs. 39 %) (Chen, Lee et al. 2004).

In der dritten Serie zeigte sich der Zusammenhang von ASS-Resistenz und schwerwiegenden Ereignissen: 468 Patienten mit stabiler KHK wurden über 379 ± 200

Tage beobachtet. Unter einer ASS-Dosis von 80-325 mg täglich über 4 Wochen fand sich bei 27,4 % der Patienten eine ASS-Resistenz (VerifyNow Aspirin®). Diese Gruppe hatte ein erhöhtes Risiko, ein schwerwiegendes Ereignis (kardiovaskulärer Tod, Myokardinfarkt, instabile Angina pectoris, Schlaganfall oder TIA) zu erleiden: 15,6 % vs. 5,3 % (95 % KI 1,65-5,91, $P < 0,001$). Zudem wurde mittels eines Cox-Regressions-Modells ein Zusammenhang zu Diabetes mellitus, stattgehabten Myokardinfarkten oder erniedrigten Hämoglobinwerten gesehen (HR bei ASS-Resistenz 2,46; 95 % KI 1,27-4,76, $P = 0,007$) (Chen, Cheng et al. 2007).

Zusätzlich wurde an fast 3.000 Patienten in einer Metaanalyse gezeigt, dass eine ungenügende ASS-Response ein vierfach erhöhtes Risiko birgt, rezidivierende kardiovaskuläre Ereignisse zu erleiden (Snoep, Hovens et al. 2007, Krasopoulos, Brister et al. 2008).

Drei andere Studien ermittelten die ASS-Resistenz über die Bestimmung der 11-Dehydro-Thromboxan B₂ Konzentration im Urin (UTXB₂):

Die HOPE Studie zeigte im Anschluss an eine fünfjährige Nachbeobachtung, dass Patienten mit einer 11-Dehydro-Thromboxan B₂-Konzentration im höchsten Quartil (entsprechend einer geringeren ASS-Response) ein höheres Risiko für Schlaganfall, Myokardinfarkt und Tod hatten, als Patienten mit einer 11-Dehydro-Thromboxan B₂-Konzentration im untersten Quartil (adjustierter OR 1,8; 95 % KI 1,2-2,7) (Eikelboom, Hirsh et al. 2002).

In der CHARISMA-Studie waren UTXB₂-Konzentrationen im höchsten Quartil gegenüber UTXB₂-Konzentrationen im untersten Quartil mit einem gesteigerten Risiko für Schlaganfall, Myokardinfarkt, oder kardiovaskulärem Tod verbunden, als mit Konzentrationen im untersten Quartil (adjustierter HR 1,7; 95 % KI 1,1-2,6) (Eikelboom, Hankey et al. 2008).

Zu ähnlichen Ergebnissen kam die RIGOR-Studie, die 229 Patienten unter ASS-Medikation und anschließender koronarer Bypass-OP evaluierte. Nach 6 Monaten wiesen 31 % der Patienten erhöhte UTXB₂-Werte auf, die mit einer gesteigerten Rate an Bypass-Verschlüssen assoziiert waren (Gluckman, McLean et al. 2011).

1.9.1.3 Mechanismen der ASS-Resistenz

1. Genetische Variabilität

Genetische Varianten von Enzymen oder Glykoproteinen, die für den Prozess der Thrombozytenaggregation essentiell sind, könnten in Zusammenhang zur ASS-Resistenz stehen. Unklar ist bisher jedoch, inwieweit diese Varianten eine klinische Relevanz haben. Nachfolgend wurden einige bedeutende aufgelistet:

COX-1: Eine genetische Variabilität im COX-1-Gen könnte für eine ungenügende Plättchensuppression verantwortlich sein. Hier wurden vor allem Varianten in der Promotorregion (-842G Allel und rs1330344) mit einer ungenügenden laboranalytischen Plättchenhemmung in Verbindung gebracht (Maree, Curtin et al. 2005, Li, Cao et al. 2013).

HO-1: Die Heme Oxygenase-1 (HO-1) spielt eine Schlüsselrolle in der Protektion von Zellen unter oxidativem Stress. Ihre Expression in der Gefäßwand könnte eine wichtige Rolle bei der Verhinderung von Arteriosklerose, einer Intimahyperplasie und der Thrombose spielen (Peng, Mundada et al. 2004). Es zeigte sich, dass ASS die HO-1-Expression induziert und somit eine Thrombusformation verhindert (Grosser, Abate et al. 2003). Besteht ein Polymorphismus (wie z.B. rs2071746) in dem Gen, ist die HO-1-Expression gestört und ein Thrombus kann sich trotz ASS-Einnahme bilden (Li, Cao et al. 2013).

Glykoprotein IIIa (PIA) Polymorphismus: GP IIb/IIIa spielt eine zentrale Rolle in der Thrombusbildung, weshalb eine funktionelle Veränderung im Gen mit einer insuffizienten Thrombozytenaggregation einhergehen kann. *Michelson et al.* zeigten, dass unter ASS-Einnahme Plättchen, die homozygot für das $PI^{A1,A1}$ -Allel sind, eine geringere Hemmung der Thrombozytenaggregation aufweisen, als jene mit dem heterozygoten $PI^{A1,A2}$ -Typ (Michelson, Furman et al. 2000).

Trotz dieser Erkenntnisse zeigten bisher mehrere Studien, dass es klinisch keinen Zusammenhang zwischen den verschiedenen Polymorphismen und dem Auftreten

unerwünschter Ereignisse gibt, sodass keine Notwendigkeit bestand, die Therapie anzupassen (Postula, Kaplon-Cieslicka et al. 2011, Voora, Horton et al. 2011).

2. Compliance

Ob Patienten, die mittels Plättchenfunktionsanalyse als ASS-resistent eingestuft werden, auch *compliant* sind, hat eine Studie mit 223 Patienten untersucht. In der Studie wurde eine Resistenz bei 7 von 203 Patienten (3,4 %) festgestellt, die eine PCI erhielten. Alle 7 Patienten gaben anschließend eine Nichteinnahme von ASS zu. Nur einer von 223 (0,4 %) Patienten war tatsächlich ASS-resistent (Tantry, Bliden et al. 2005).

Eine andere Arbeit kam zu einem vergleichbaren Ergebnis: 19 von 136 Patienten (14 %) hatten demnach eine ungenügende *ASS-Response*. Nach kontrollierter Einnahme war dagegen nur noch ein Patient ASS-resistent (Cuisset, Frere et al. 2009).

3. Interaktionen mit Medikamenten

Magensaft-resistente Aspirin[®] Tabletten - Wenn Magensaft-resistente Aspirin[®] Tabletten verschrieben werden, um die gastrointestinale Toxizität zu minimieren, kann es zu Absorptionsproblemen kommen. Die Folge wäre eine ungenügende Plättchenhemmung.

Um dies zu prüfen, nahmen 400 Freiwillige eine einmalige Dosis von 325 mg Magensaft-resistenten- oder Magensaft-nicht-resistenten Aspirin[®]-Tabletten ein. Die Plättchenfunktionsanalyse zeigte eine hohe Resistenzquote (bis zu 49 % vs. 0 %) bei Patienten, die die behüllten Tabletten einnahmen. Abgesehen von einem Freiwilligen, der weder auf die Magensaft-resistente noch auf die unbehüllte Tabletten ansprach und auch nicht auf die In-vitro-Zugabe von ASS reagierte, konnte bei allen anderen Probanden eine vermeintliche Resistenz durch Gabe von direkt aufnahmefähigem Aspirin[®] widerlegt werden (Grosser, Fries et al. 2013).

Es sollte also in akuten Situationen darauf geachtet werden, dass keine Magensaft-resistenten Tabletten genutzt werden, damit ein ausreichender antithrombotischer Effekt

erzielt werden kann. Kann aus intestinalen Gründen nur die Magensaft-resistente Variante eingenommen werden, sollte die Dosis erhöht werden (Cox, Maree et al. 2006).

Protonenpumpenhemmer - Studien belegten außerdem einen Zusammenhang zwischen ASS-Resistenz und der Einnahme von Protonenpumpeninhibitoren (PPI).

In einer Fall-Kontroll-Studie mit 418 KHK-Patienten zeigte die Plättchenfunktionsanalyse eine signifikant stärkere Thrombozytenaggregation bei Patienten unter PPI-Einnahme im Vergleich zu solchen, ohne PPI-Einnahme (Wurtz, Grove et al. 2010).

Eine weltweite Studie mit 19.925 Myokardinfarkt-Patienten evaluierte die kardiovaskulären Auswirkungen einer PPI-Einnahme bei Patienten unter ASS-Einnahme. Von diesen Patienten starben 12,5 % (vs. 8,5 %) an kardiovaskuläre Folgen. Somit war auch hier ein erhöhtes Risiko unter PPI-Einnahme gegeben (Charlot, Grove et al. 2011).

NSAR – NSAR (Nichtsteroidale Antirheumatika) wie Ibuprofen antagonisieren die Wirkung von ASS über die reversible Hemmung der COX-1. Dieser Effekt entsteht vor allem dann, wenn die NSAR-Einnahme vor der ASS-Einnahme erfolgt und wenn NSAR mehrfach am Tag eingenommen werden. Schlussfolgernd kann die gleichzeitige Einnahme von NSAR zu ASS den kardioprotektiven Effekt von ASS unterbinden. Eine Studie zeigte, dass selektive COX-2-Hemmer wie Rofecoxib oder Paracetamol in dieser Situation bevorzugt werden sollten (Catella-Lawson, Reilly et al. 2001, Hennekens, Schneider et al. 2010).

4. Andere mögliche Ursachen

Inadäquate Thromboxan A₂-Suppression - Die *HOPE*-Studie zeigte, dass eine erhöhte 11-Dehydro-Thromboxan B₂-Konzentration im Urin mit einem gesteigerten Risiko einhergeht, einen Myokardinfarkt oder kardiovaskulären Tod zu erleiden. Abgesehen von *Non-Compliance* und einer nicht adäquaten ASS-Dosis könnte es eine Korrelation zwischen einer geringeren COX-1-Sensitivität dieser Patienten und einer Resistenz geben. Verantwortlich dafür könnten, wie bereits erwähnt, *single nucleotid polymorphismen* (SNPs) sein (Eikelboom, Hankey et al. 2008).

Eine andere Theorie bezieht sich auf die Thromboxan-A₂-Produktion durch Makrophagen: In der Endothelwand von Arteriosklerose-Patienten und solchen mit chronisch

entzündlichen Erkrankungen befinden sich viele Makrophagen, deren COX-2-abhängige Produktion von Thromboxan-A₂ durch ASS nur reversible gehemmt wird. Dies hat die Schlussfolgerung, dass Thrombozyten trotz ASS-Medikation weiterhin aktiviert werden (Halushka and Halushka 2002).

COX-1-Erholung - Zwei Studien zeigten, dass eine einmalige 100 mg bzw. 200 mg ASS-Gabe pro Tag zu einer Erholung der COX-1-Aktivität führen kann. Eine aufgeteilte Dosis von 2 x 100 mg ASS pro Tag verhinderte hingegen den unerwünschten Effekt (Rocca, Santilli et al. 2012). Auch unter einer erhöhten Dosis von 325 mg ASS zeigte die COX-1-Aktivität eine Erholung von 10 % pro Tag (Burch, Stanford et al. 1978).

Low-Response trotz COX-1-Acetylierung – Die Studie von *Kovács et al.* untersuchte 108 gesunde Probanden auf eine COX-1-Acetylierung nach 7-tägiger, kontrollierter Einnahme von niedrigdosiertem ASS (Lordkipanidze, Pharand et al. 2007). Da laut Definition eine chemische ASS-Resistenz besteht, wenn ASS nicht in der Lage ist, das COX-1-Enzym zu acetylieren, müsste bei allen Probanden, die in den entsprechenden Testsystemen (PFA-100[®], Verify-Now[®] und LTA) eine verminderte *Response* zeigten, eine nicht-acetylierte Form des Enzyms vorliegen (Kovacs, Katona et al. 2014). Jedoch zeigten die Ergebnisse, dass ausschließlich eine acetylierte COX-1 vorlag, was zur Annahme führte, dass andere Faktoren für das verminderte Ansprechen der Thrombozyten ursächlich sind (Kovacs, Katona et al. 2014). Beispielsweise könnte dies folgende Gründe haben:

1. Es besteht bereits vor der Testung eine hohe Plättchenaktivität.
2. Eine verbliebene hohe Plättchenaktivität ist durch COX-1-unabhängige Wege hervorgerufen.
3. Es besteht eine verstärkte Neubildung von Thrombozyten, von denen die meisten noch nicht acetyliert sind (Grove, Hvas et al. 2009, Arazi, Doigny et al. 2010, Henry, Vermillet et al. 2011).
4. Der PFA-100[®] Test wird durch den vWF, den Hämatokrit-Wert und/oder die Plättchenzahl beeinflusst.

Wohingegen Ursachen für eine nicht-acetylierte COX-1 auf *Non-Compliance* oder den Gebrauch von NSAR beruhen (Michelson, Cattaneo et al. 2005, Schwartz, Schwartz et al. 2008, Fitzgerald and Pirmohamed 2011, Kovacs, Katona et al. 2014).

Diese Studie zeigt auf, dass Labormethoden, die nicht zwischen Acetylierung und Nicht-Acetylierung unterscheiden, weniger gut zur Detektion einer ASS-Resistenz geeignet sind (Kovacs, Katona et al. 2014). Bei den mit Standardlabormethoden identifizierten ASS-resistenten Patienten muss von einer hohen Zahl an falsch diagnostizierten Resistenzen ausgegangen werden (Kovacs, Katona et al. 2014). Zudem ist es begründet, den Plättchenaktivitätsstatus vor und nach der Behandlung zu vergleichen, um diejenigen Patienten zu identifizieren, die dauerhaft eine erhöhte Plättchenaktivität zeigen (Kovacs, Katona et al. 2014).

1.9.1.4 Therapeutische Optionen

Eine Anwendung von Magensaft-resistenten ASS-Tabletten ist bei Hochrisikopatienten zu vermeiden (Grosser, Fries et al. 2013). Bestenfalls erfolgt die Plättchenhemmung über eine niedrigdosierte ASS-Therapie (75-100 mg) mit Gabe der Dosis an zwei Zeitpunkten am Tag, um eine dauerhaft suffiziente Hemmung der COX-1-Aktivität hervorzurufen (Patrono, Garcia Rodriguez et al. 2005, Lansberg, O'Donnell et al. 2012, Rocca, Santilli et al. 2012).

Omega-3-Fettsäuren und Fischölkapseln sollen in vitro das Ansprechen auf ASS verbessern (Larson, Ashmore et al. 2008, Gajos, Rostoff et al. 2010, Lev, Solodky et al. 2010). Wohingegen die Einnahme von NSAR, wie Ibuprofen, den protektiven Effekt von ASS antagonisieren. Hier kann z.B. auf Paracetamol oder selektive COX-2-Hemmer ausgewichen werden (Catella-Lawson, Reilly et al. 2001, Hennekens, Schneider et al. 2010). PPI sollten bei Hochrisikopatienten selektiv verabreicht werden (Charlot, Grove et al. 2011). Bei Patienten mit Arteriosklerose könnte eine entzündungshemmende Therapie zu einer geringeren Thromboxan-A₂-Produktion durch Makrophagen und dadurch zu einem geringeren kardiovaskulären Risiko führen (Halushka and Halushka 2002).

Die *2008 American College of Chest Physicians Clinical Practice Guidelines* sehen bei einer in vitro festgestellten ASS-Resistenz nicht vor, die Medikation auf einen anderen Plättchenhemmer (z.B. Clopidogrel) umzustellen. Zunächst sollten die *Compliance* erfragt und anschließend die Dosierung erhöht werden, bevor ein Wechsel stattfindet (Douketis, Berger et al. 2008).

Große Studien wie *CREDO* und *CURE* teilen diese Ansicht nicht und glauben an den klinischen Vorteil von Clopidogrel bei einer *ASS-Low-Response* (Mehta and Yusuf 2000).

1.9.2 Clopidogrel-Resistenz

1.9.2.1 Definition und Prävalenz

Resistenz und Nicht-Ansprechen

Eine Clopidogrel-Resistenz liegt vor, wenn keine suffiziente Hemmung der Plättchenaggregation unter der Therapie mit Clopidogrel erreicht wird. Dieses Phänomen ist z.B. mittels ADP-induzierter Plättchenaggregation messbar, wenn es nur zu einer ≤ 10 %igen Reduktion der Plättchenaktivität gegenüber dem Basiswert kommt (Tantry, Bliden et al. 2005).

Therapieversagen

Analog zur ASS-Resistenz beschreibt das Auftreten von thrombotisch/ischämischen Ereignissen ein Therapieversagen.

Prävalenz

Etwa 4-30 % der mit Clopidogrel behandelten Patienten sprechen nicht adäquat auf den Plättchenhemmer an (Nguyen, Diodati et al. 2005). Eine Metaanalyse mit 3.688 Patienten zeigte eine *Non-Response* bei 21 % der Patienten (Snoep, Hovens et al. 2007). Circa 6 % der ASS-Resistenten sind auch resistent in Bezug auf Clopidogrel (Lev, Patel et al. 2006, Gori, Marcucci et al. 2008). Dabei sollte auch hier die Variabilität der Prävalenz durch die verschiedenen Testsysteme berücksichtigt werden. Schon die Konzentrationsänderung innerhalb einer Methode kann die Prävalenz verändern. So zeigten *Breet et al.*, dass in ihrer Studie die Prävalenz der Clopidogrel-Resistenz mit 5 μ M ADP in der LTA bei 14,9 % und mit 20 μ M ADP bei 13,0 % lag (Breet, van Werkum et al. 2011).

Zudem konnte gezeigt werden, dass die Prävalenz abhängig von der Medikationsdauer war. In einer Studie mit Patienten, die einen koronaren Stent erhielten und mit einer initialen Dosis von 300 mg Clopidogrel und anschließend mit einer Erhaltungsdosis von 75

mg Clopidogrel pro Tag behandelt wurden, konnte demonstriert werden, dass die Prävalenz von 31 % am 5. Tag (nach Stentimplantation) auf 15 % am 30. Tag abfiel (Gurbel, Bliden et al. 2003). 24 Stunden nach der ersten Medikation war dabei die Plättchenreaktivität am höchsten (Abbildung 4) (Gurbel, Bliden et al. 2003).

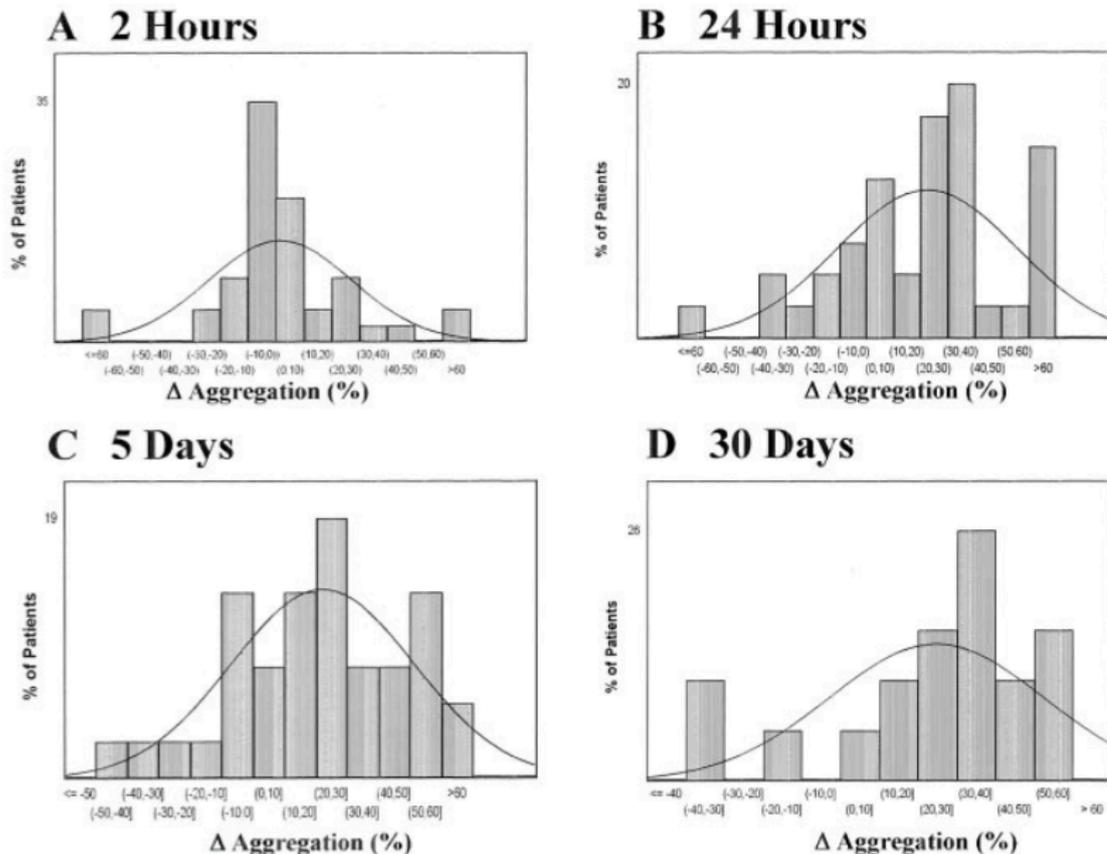


Abbildung 4: Beziehung zwischen Patientenfrequenz und absoluter Änderung der Aggregation (%) als Antwort auf 20 μ mol/l ADP nach 2h (A), 24h (B), 5 Tagen (C), 30 Tagen (D) nach „Stenting“. Die Δ Aggregation (%) ist definiert als „baseline Aggregatio“n (%) minus „posttreatment aggregation“ (%) – Gurbel, P.A., et al. (2003)

1.9.2.2 Klinische Relevanz

Matezky et al. zeigten an 60 Patienten nach Myokardinfarkt und unter Clopidogrel-Medikation, welche Bedeutung einer suffizienten Plättchenhemmung in Bezug auf die klinischen Endpunkte beigemessen werden kann. Eine adäquate Plättchenhemmung wurde durch die ADP-induzierte Plättchenaggregation gemessen. Nach sechs Monaten zeigte sich, dass Patienten, die am wenigsten auf Clopidogrel ansprachen (unterstes Quartil), mehr wiederkehrende kardiovaskuläre Ereignisse aufwiesen, als Patienten in den anderen

drei Quartilen (Matetzky, Shenkman et al. 2004). Auch bei Patienten mit stabiler Angina pectoris und PCI konnte mittels ADP-induzierter LTA gezeigt werden, dass der Nachweis einer Clopidogrel-Resistenz ein erhöhtes Risiko birgt, postprozedurale Ischämien zu erleiden (Bliden, DiChiara et al. 2007). Auch *Gurbel et al.* stellten an 192 Patienten, die sich einer elektiven stentbasierten Koronarintervention unterzogen, dar, dass höhere Werte in der mit ADP induzierten LTA mit ischämischen Ereignissen innerhalb von sechs Monaten assoziiert waren (Gurbel, Bliden et al. 2005). Eine prospektive Studie mit 802 Patienten, die eine elektive PCI erhielten, fand heraus, dass unter einer Therapie mit 600 mg Clopidogrel (*Loading-Dosis*) eine ADP-induzierte Plättchenaggregation, die höher ist als der Median, ein 6,7-fach gesteigertes Risiko birgt, innerhalb von 30 Tagen nach der Prozedur einen Myokardinfarkt zu erleiden oder zu versterben (Hochholzer, Trenk et al. 2006).

Buonamici et al. zeigten an 804 Patienten, die einen medikamentenbeschichteten Stent (*drug-eluting stent*, DES) erhielten, dass bei Patienten mit verminderter Clopidogrel-*Response* das Risiko, eine Stentthrombose zu erleiden, signifikant höher ist als bei Patienten mit suffizienter Clopidogrel-*Response* (8,6 % vs. 2,3 %; $p < 0,001$) (Buonamici, Marcucci et al. 2007). Hinzukommend präsentierten *Cuisset et al.* eine Studie an Patienten mit akutem Koronarsyndrom (ohne ST-Strecken-Hebung), in der kardiovaskuläre Rezidivereignisse mit einer ungenügenden Clopidogrel-*Response* zusammenhingen. Dabei kam es in der Gruppe der Patienten mit ungenügender Clopidogrel-*Response* vermehrt zu kardiovaskulären Todesfällen, nicht-fatalen Myokardinfarkten und Stentthrombosen (Cuisset, Frere et al. 2006). Ähnliches berichteten auch *Patti et al.*: Eine hohe Plättchenreaktivität unter der Einnahme von Clopidogrel konnte kardiovaskuläre Ereignisse in den nachfolgenden 30 Tagen voraussagen (Patti, Nusca et al. 2008).

1.9.2.3 Mechanismen der Clopidogrel-Resistenz

1. Genetische Variabilität

CYP2C19-Polymorphismus

Um seine Plättchen-hemmende Wirkung zu entfalten, muss Clopidogrel von einer inaktiven Vorstufe (*Prodrug*) in einen aktiven Metaboliten umgewandelt werden. 85 % des

absorbierten Clopidogrels werden durch die hepatische Carboxylesterase hydrolysiert und inaktiviert. 15 % werden durch das in der Leber befindliche Cytochrom P450 (CYP)-System metabolisiert und aktiviert. Diese Biotransformation zum aktiven Metaboliten verlangt zwei Schritte der Oxidation. Der erste Schritt ist die Oxidation zu 2-Oxo-Clopidogrel von CYP2C19, CYP1A2 und CYP2B6. Der zweite Schritt zum aktiven Metaboliten wird durch die Enzyme CYP3A4, CYP2B6, CYP2C19 und CYP2C9 katalysiert. Dabei scheint das CYP2C19-Enzym den größten Beitrag zur Aktivierung zu leisten (Hagihara, Kazui et al. 2009).

Die am häufigsten mit einer Clopidogrel-Resistenz verbundenen Polymorphismen sind die des CYP2C19-Enzyms. Besonders die *Loss-of-function*-Mutationen CYP2C19*2 und CYP2C19*3 gerieten ins Visier der Wissenschaft. Die G681A-Mutation im Exon 5 des Cytochrom 2C19-Enzyms resultiert in einer alternativen Splice Stelle, die zur Produktion eines nicht funktionierenden Proteins (CYP2C19*2) führt. CYP2C19*3 wiederum entsteht aus einer G636A-Mutation im Exon 4 mit einem verfrühten Stopcodon. Studien konnten zeigen, dass diese Mutationen zu einer höheren Plättchenreaktivität trotz Clopidogrel-Einnahme führen können und sogar ein bis zu dreifach erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen bedingen (Hulot, Bura et al. 2006, Scott, Sangkuhl et al. 2011, Wei, Wang et al. 2015).

P2Y₁₂-Rezeptor-Polymorphismus

Ein weiterer relevanter Polymorphismus ist der des P2Y₁₂-Rezeptors. Tritt hier der H2-Haplotyp auf, konnten *Fontana et al.* eine Assoziation mit einer Thienopyridin-Resistenz feststellen (Fontana, Gaussem et al. 2003). *Von Beckerath et al.* zeigten hingegen an 416 Patienten, die sich einem Koronarstenting unterziehen sollten, dass ein H2-Haplotyp zu keiner verstärkten Plättchenaggregation unter Clopidogrel-Therapie führt (von Beckerath, von Beckerath et al. 2005).

2. Interaktionen mit Medikamenten

Medikamente, die die Cytochromaktivität inhibieren oder mit Clopidogrel um die hepatische Metabolisierung durch das Cytochrom P450 System konkurrieren, stehen im

Verdacht, die Clopidogrel-Wirkung zu beeinflussen (Bonello, Tantry et al. 2010). Jedoch gibt es keine prospektive Studie, die dies stützt. Zudem konnte gezeigt werden, dass auch Faktoren wie Alter, Nierenfunktion, Diabetes und der Körpermaßindex (*body mass index*, BMI) die Plättchenantwort auf ADP beeinflussten (Bonello, Tantry et al. 2010).

Die folgenden Medikamente scheinen eine gewisse Rolle zu spielen:

Statine - Einige Studien zeigten eine Korrelation zwischen fettlöslichen Statinen und einem verminderten pharmakodynamischen Effekt von Clopidogrel. Erklärbar könnte dies dadurch sein, dass beide Substanzen einige Metabolisierungswege teilen. Trotzdem konnte ein klinischer Zusammenhang noch nicht eindeutig nachgewiesen werden (Trenk, Hochholzer et al. 2008, Schmidt, Johansen et al. 2012).

Eine große randomisierte Studie mit 15.603 Patienten (*CHARISMA*-Studie) zeigte, dass weder durch CYP3A metabolisierte, noch die nicht durch CYP3A metabolisierten Statine eine signifikante Steigerung des kardiovaskulären Risikos hervorrufen konnten (Risiko mit Clopidogrel 6,8 %; Risiko Clopidogrel + durch CYP3A metabolisiertes Statin 5,9 %; Risiko Clopidogrel + nicht durch CYP3A metabolisiertes Statin 5,7 %) (Saw, Brennan et al. 2007).

Schlussfolgernd ist es für klinisch tätige Ärzte aktuell nicht erforderlich, bei bestehender Clopidogrel-Medikation ein bestimmtes Statin auszuwählen.

Protonenpumpeninhibitoren (PPI) - Studien ergaben auch Hinweise für eine mögliche Interaktion zwischen PPI und Clopidogrel. Hierbei zeigten sich jedoch uneinheitliche Ergebnisse:

Eine Metaanalyse von 2015 mit 6 Studien ergab ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse für Patienten, die zusätzlich zu Clopidogrel Pantoprazol (HR 1,38; 95 %-KI 1,12-1,70), Lansoprazol (HR 1,29; 95 %-KI 1,09-1,52) oder Esomeprazol (HR 1,27; 95 %-KI 1,02-1,58) einnahmen. Die Omeprazol-Einnahme war dagegen mit keiner signifikanten Risikoerhöhung verbunden (HR 1,16; 95 %-KI 0,93-1,44) (Sherwood, Melloni et al. 2015).

Die *COGENT*-Studie verglich die alleinige Einnahme von Clopidogrel mit der kombinierten Einnahme von Clopidogrel und Omeprazol. Es kam zu einer signifikanten Reduktion von gastrointestinalen Komplikationen (Blutungen, Erosionen, Ulzera, Obstruktion), jedoch nicht zu einer signifikanten Zunahme von kardiovaskulären Ereignissen (4.9 % vs. 5.7 %; HR mit Omeprazol 0,99; 95 % KI, 0,68-1,44; p= 0,96) (Bhatt, Cryer et al. 2010).

Die *PLATO* Studie zeigte an 12.060 Patienten, dass eine PPI-Begleitmedikation mit vermehrtem Auftreten kardiovaskulärer Ereignissen assoziiert ist (13,0 % vs. 10,9 %; HR 1.20; 95 %-KI). Dennoch hielten die Verantwortlichen für diese Beobachtung eher Störfaktoren als eine Interaktion mit PPI verantwortlich (Goodman, Clare et al. 2012).

Inwieweit unkontrollierte und unkontrollierbare Störfaktoren für diese Ergebnisse verantwortlich sind, ist zurzeit noch nicht abschließend geklärt.

Calciumkanalblocker - Calciumkanalblocker inhibieren das CYP3A4-Enzym, welches auch genutzt wird, Clopidogrel in seinen aktiven Metaboliten zu transferieren. Mit Hilfe der ADP-induzierten LTA und des VerifyNow[®]-Tests wurde untersucht, inwieweit dies die Clopidogrel-Wirkung beeinflusst. 162 Patienten, die eine PCI mit Stent erhielten, wurden erfasst. Patienten, die gleichzeitig einen Calciumkanalblocker erhielten, hatten dabei eine signifikant höhere residuale Plättchenaktivität (p=0,001 für LTA, p=0,004 für VerifyNow[®]). Die Calciumkanalblocker-Therapie ist also ein unabhängiger Prädiktor für eine reduzierte Clopidogrel-abhängige Plättchenhemmung (p=0,0006 für LTA und p=0,004 für VerifyNow[®]) (Gremmel, Steiner et al. 2010).

Auch *Siller-Matula et al.* identifizierten eine Assoziation zwischen der Einnahme von Calciumkanalblockern und einer reduzierten Plättchenhemmung durch Clopidogrel (Siller-Matula, Lang et al. 2008).

Hingegen untersuchten *Olesen et al.* 56.800 Patienten und *Sarafoff et al.* 1.608 Patienten und stellten keinen Zusammenhang zwischen klinischen Ereignissen und der gleichzeitigen Einnahme von Clopidogrel und Calciumkanalblockern fest (Olesen, Gislason et al. 2011, Sarafoff, Neumann et al. 2011).

Basierend auf den aktuellen Daten gibt es somit keine Empfehlung, Calciumkanalblocker

bei Clopidogrel-Einnahme abzusetzen.

CYP3A4-Aktivatoren & -Inhibitoren - CYP3A4-Aktivatoren wie Rifampicin oder Johanniskraut können den Effekt von Clopidogrel maximieren, sogar bei Patienten mit *Low-Response*. Dahingegen führen Substanzen, die mit Clopidogrel um CYP3A4 kompetieren (z. B. Erythromycin oder Azol-Antimykotika), zu einer verminderten Plättchenhemmung durch Clopidogrel (Lau, Gurbel et al. 2004, Lau, Welch et al. 2011).

3. Andere Interaktionen

Omega-3-Fettsäuren - Es konnte gezeigt werden, dass die Gabe von einem Gramm ungesättigten Omega-3-Fettsäuren in einer signifikanten Steigerung der Plättchenhemmung durch Clopidogrel und ASS resultiert (Gajos, Rostoff et al. 2010).

Diabetes mellitus - Einige Studien stellten fest, dass Diabetes mellitus-Patienten unter der Einnahme von Clopidogrel eine weniger ausgeprägte Plättchenhemmung zeigten. Sie wiesen eine geringere Konzentration des aktiven Metaboliten im Blut auf, reagierten jedoch adäquat auf den ex vivo hinzugeführten Metaboliten. Dies könnte theoretisch durch eine erhöhte Plättchenaktivität und den hohen Anteil an zirkulierenden unreifen Thrombozyten erklärbar sein (Erlinge, Varenhorst et al. 2008, Grove, Hvas et al. 2009, Angiolillo, Bernardo et al. 2011). Doch auch diesbezüglich sind die wenigen Studien nicht konkordant.

Nikotinabusus - Das „Raucher Paradoxon“ beschreibt eine Beobachtung bei Rauchern: Dabei wiesen mehrere Studien darauf hin, dass Rauchen die Plättchenhemmung unter Einnahme von Clopidogrel durch Stimulation von CYP1A2 maximieren kann. *Gagne et al.* zeigten an 75.000 Patienten, dass Raucher, die Clopidogrel einnahmen, ein um 25 % reduziertes Risiko für kardiovaskulären Tod, Myokardinfarkt und Schlaganfall im Vergleich zu Nicht-Rauchern aufwiesen (8 % Risikoreduktion durch Clopidogrel bei Nicht-Rauchern) (Gagne, Bykov et al. 2013).

Folgende Abbildung fasst die wichtigsten Mechanismen zusammen:

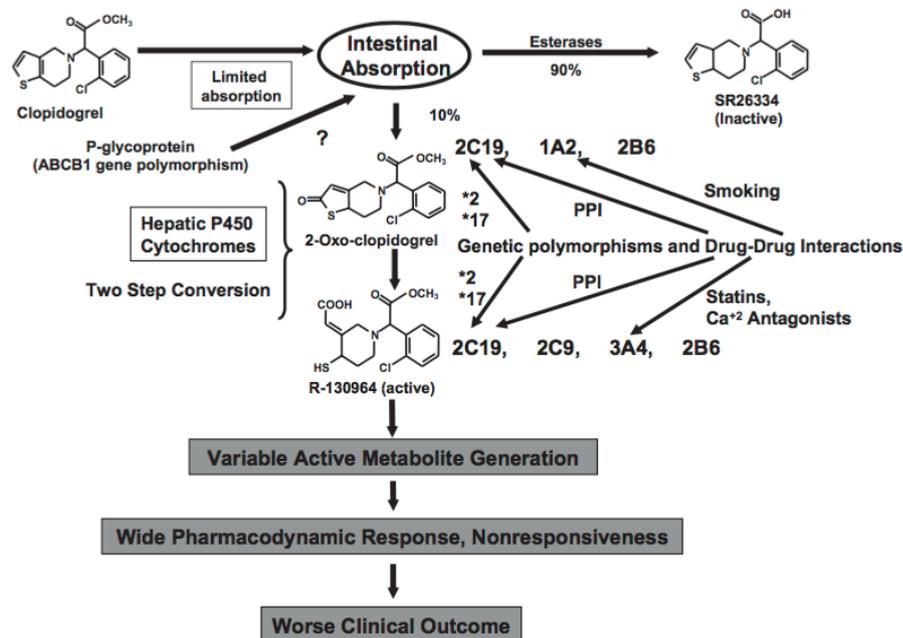


Abbildung 5: Die Variabilität der Clopidogrel-Wirkung ist ein pharmakokinetisches Problem, welches primär von aktiven Cytochrom P450-Isoenzymen beeinflusst wird. Die Absorption könnte von einem Polymorphismus im ABCB1-Gen abhängig sein. Die Aktivität der Cytochrom P450-Isoenzyme wird durch Medikamenteninteraktionen, genetische Polymorphismen und Umweltfaktoren (Rauchen) beeinflusst – Bonelle, L., et al. (2010)

1.9.2.4 Therapeutische Optionen

Patienten, die eine Stentthrombose oder ein akutes Koronarsyndrom unter Einnahme von Clopidogrel entwickeln, können eine Clopidogrel-Resistenz aufweisen. Bisher konnte keine Studie zeigen, dass eine vorherige Testung auf eine *Low-Response* oder eine genetische Untersuchung zum Nachweis einer CYP2C19 *Loss-of-function*-Mutation das klinische Ergebnis verbessert. Daher werden diese Tests routinemäßig nicht empfohlen (Collet, Cuisset et al. 2012, Amsterdam, Wenger et al. 2014, Aradi, Storey et al. 2014) . Sollte dennoch eine Clopidogrel-Resistenz nachgewiesen werden, kann der Einsatz anderer P2Y₁₂-Antagonisten (Ticagrelor oder Prasugrel) erwogen werden.

Eine andere Alternative wäre die Anpassung der Aufsättigungsdosis: Es konnte in verschiedenen Studien der Nachweis erbracht werden, dass deren Erhöhung in einer signifikant verstärkten *Response* und somit in einem verbesserten kurzfristigen Ergebnis

resultiert (Gurbel, Bliden et al. 2005, L'Allier, Ducrocq et al. 2008).

Bonello et al. konnten beispielsweise zeigen, dass die Erhöhung der Aufsättigungsdosis bei 67/78 Patienten (86 %) unter PCI eine verbesserte Plättchenhemmung mit einer signifikant erniedrigten Rate an schweren kardialen Ereignissen bewirkt (Bonello, Camoin-Jau et al. 2008).

Eine andere Studie evaluierte, ob die Erhöhung der Erhaltungsdosis eine Verbesserung der Plättchenhemmung durch Clopidogrel erzielen kann. In der *GRAVITAS*-Studie mit 2.214 Patienten mit erhöhter Plättchenreaktivität konnte jedoch kein Zusammenhang zwischen einer Dosiserhöhung und einem verbesserten Ansprechen festgestellt werden (Price, Berger et al. 2011).

1.9.3 Zusammenfassung

Das variable Ansprechen auf Clopidogrel und ASS ist im klinischen Alltag ein bekanntes Problem. Die Prävalenz einer ASS-/Clopidogrel-Resistenz hängt von der gewählten Labormethode ab. Verschiedene Agonisten und Cut-off-Werte erschweren die Problematik.

Teil der Forschung wird es in den nächsten Jahren sein, die genauen Mechanismen der Clopidogrel/ASS-Resistenz aufzudecken und standardisierte Plättchenfunktionsanalysen in der klinischen Praxis einzuführen.

1.9.4 Plättchenfunktionsanalyse zur Identifikation einer Resistenz

ASS

Die Testung auf ASS-Resistenz wird zwar routinemäßig nicht empfohlen, sie kann aber hilfreich zur Überprüfung der *Compliance* oder zur Dosisanpassung bei genetischen Varianten und Patienten mit Diabetes mellitus sein (Michelson, Cattaneo et al. 2005, Wang, Bhatt et al. 2006).

Arachidonsäure induzierte Plättchenaktivierung

Testsysteme, die eine Hemmung der Thromboxan-A₂-Produktion in den Plättchen durch Inhibierung der COX-1 messen, können eine ASS-Resistenz feststellen. Sie beruhen in der Praxis auf einer durch Arachidonsäure ausgelösten Plättchenaktivierung/-aggregation.

Andere Testungen

Messungen, die andere Agonisten wie Kollagen, ADP oder Epinephrin verwenden, schwanken in ihrer Aussagekraft und zeigten bisher eine ungenügende klinische Relevanz (Faraday, Yanek et al. 2007).

Prävalenz & Testkorrelationen

Die Prävalenz einer ASS-Resistenz unterscheidet sich erheblich zwischen den einzelnen Testsystemen. Während die Messung des Thromboxan-B₂-Spiegels im Serum und die LTA nur eine Prävalenz von 1-4 % zeigten, zeigte der PFA-100®-Test eine Prävalenz von 60 % (Cattaneo 2007, Muir, McMullin et al. 2009). Hinzukommend scheinen die Testsysteme untereinander nur ungenügend zu korrelieren, wofür eine unterschiedliche Sensitivität auf Störeinflüsse und eine vorbestehende hohe Plättchenaktivität verantwortlich gemacht werden konnten (Frelinger, Li et al. 2008, Renda, Zurro et al. 2010).

Lordkipanidzé et al. untersuchten 201 Patienten mit stabiler KHK mittels sechs verschiedener Plättchenfunktionstests. Die Ergebnisse hierzu sind in den Abbildungen 6 und 7 dargestellt.

Die als Goldstandard gewertete LTA mit Arachidonsäure lieferte (Cut-off-Wert von ≥ 20 % Restaktivität) eine ASS-Resistenz mit einer Prävalenz von 4 %. Mit der gleichen Methode wurden verschiedene Konzentrationen von ADP (5 μ M, 10 μ M und 20 μ M) verwendet. Hier lag die Prävalenz bei 10,3-51,7 % (Cut-off-Wert von ≥ 70 % Aggregation). Weitere Testverfahren lieferten die folgenden Prävalenzen: Impedanzaggregometrie 18 % (Cut-off-Wert 3 Ω), PFA-100® mit der Kollagen/Epinephrin-Kartusche 59,5 % (Cut-off-Wert < 193 s), VerifyNow Aspirin® 6,7 % (Cut-off-Wert ≥ 550 Aspirin Reaction Units) und 11-Dehydro-Thromboxan-B₂-Messung im Urin 22,9 % (Cut-off-Wert $\geq 67,9$ ng/mmol Kreatinin) (Lordkipanidze, Pharand et al. 2007).

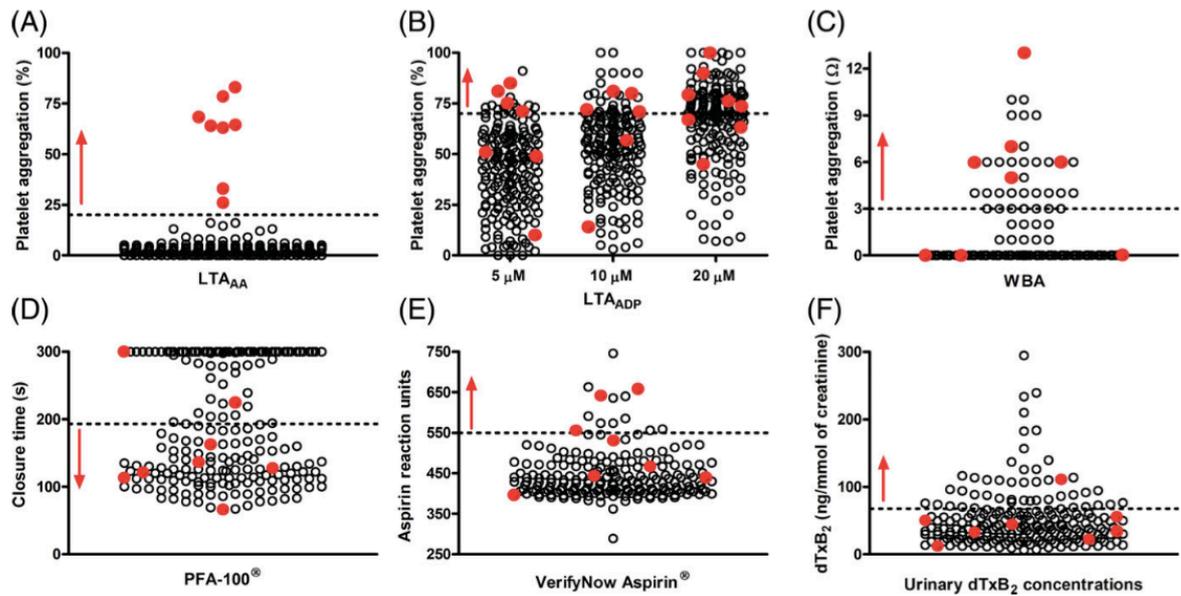


Abbildung 6: Verteilung der Ergebnisse aus verschiedenen Plättchenfunktionsanalysen. (A) LTA(AA) (B) LTA(ADP) 5, 10, und 20 µM. (C) Impedanzaggregometrie (D) Verschlusszeit mit PFA-100®. (E) ASS-Response mittels VerifyNow Aspirin® (F) dTxB₂ Konzentration im Urin. Nicht-gefärbte Kreise zeigen ASS-sensitive, rote Kreise ASS-resistente Patienten. Horizontal gezeichnete Punkte zeigen Cut-off-Werte der ASS-Resistenz nach aktueller Literatur. Der rote Pfeil zeigt die ASS-Resistenz-Zone – Lordkipanidzé et al. (2007)

Wie in Abbildung 7 dargestellt, zeigten die verschiedenen Testsysteme eine geringe Korrelation und eine geringe Übereinstimmung bezüglich der Identifikation einer Resistenz (Lordkipanidze, Pharand et al. 2007). Der Goldstandard LTA mit Arachidonsäure (AA) korrelierte nicht mit der LTA und ADP. Hier erscheint ADP wenig geeignet, um spezifisch den COX-aktivierten Weg der Plättchenaggregation zu bestimmen (Lordkipanidze, Pharand et al. 2007). Die höchste, aber immer noch sehr geringe Korrelation erwies die Impedanzaggregometrie mittels Arachidonsäure mit der LTA (AA) mit einem Koeffizienten von 0,243 (Lordkipanidze, Pharand et al. 2007). Eine geringe Korrelation ergab der Vergleich von LTA (AA) und der Urinkonzentration von dTxB₂ [53]. VerifyNow Aspirin® und PFA-100® zeigten in dieser Studie keine Korrelation mit der LTA (AA) (Lordkipanidze, Pharand et al. 2007). Einige Studien hatten zuvor die Korrelation zwischen LTA (AA) und PFA-100® eruiert und kamen ebenso zu dem Ergebnis, dass nur eine geringe Korrelation zwischen den beiden Testsystemen besteht (Gum, Kottke-Marchant et al. 2001, Harrison, Segal et al. 2005).

Wie hier in Auszügen gezeigt, mangelt es an standardisierten Testsystemen, definierten Cut-off-Werten und an der Übereinstimmung mit klinischen Ereignissen. Trotz extrem schwacher Korrelation scheinen Plättchenfunktionsanalysen wie die LTA mit Arachidonsäure, die Arachidonsäure-induzierte Impedanzaggregometrie und das VerifyNow Aspirin[®]-System sensitivere Ergebnisse zu liefern, als der PFA-100[®]-Test (Lordkipanidze, Pharand et al. 2007).

	LTA			WBA	Point-of-care assays		Urinary dTxB ₂
	ADP 5 μM	ADP 10 μM	ADP 20 μM	AA 1.6 mM	PFA-100 [®]	VerifyNow Aspirin [®]	
LTA							
AA 1.6 mM	0.063	0.091	0.058	0.243*	-0.120	0.133	0.175*
ADP 5 μM	-	0.827*	0.718*	0.290*	0.101	-0.030	-0.064
ADP 10 μM	-	-	0.714*	0.281*	0.086	-0.012	-0.071
ADP 20 μM	-	-	-	0.282*	0.094	0.023	0.014
WBA							
AA 1.6 mM	-	-	-	-	0.061	0.119	-0.025
Point-of-care assays							
PFA-100 [®]	-	-	-	-	-	0.189*	-0.124
VerifyNow Aspirin [®]	-	-	-	-	-	-	0.151*

^ait is generally accepted that a correlation coefficient between 0 and 0.2 shows no correlation, between 0.2 and 0.4 shows low correlation, between 0.4 and 0.6 shows moderate correlation, and superior to 0.8 shows good correlation.
*P < 0.05.

Abbildung 7: Korrelationskoeffizienten zwischen verschiedenen Plättchenfunktionstests- Lordkipanidzé et al. (2007)

Clopidogrel

Inhibierung des P2Y₁₂-Rezeptors

Um den therapeutischen Effekt von Clopidogrel festzustellen, wird in den Testungen die Inhibierung des P2Y₁₂-Rezeptors gemessen.

Wird in der LTA mit 5 μM ADP ein Wert von > 46 % und mit 20 μM ADP ein Wert von > 59 % gemessen, ist von einer hohen Plättchenreaktivität bzw. Resistenz auszugehen (Gurbel, Antonino et al. 2008, Bonello, Tantry et al. 2010).

Point-of-care-Tests wie VerifyNow[®] P2Y₁₂, Multiplate[®] und PFA-100[®] mit der Kollagen/ADP-Kartusche sind oft genutzte Plättchenfunktionstests zur Evaluation einer Clopidogrel-Resistenz.

Testkorrelationen

Es konnte in mehreren Studien gezeigt werden, dass VerifyNow® P2Y₁₂ gut mit der ADP-induzierten LTA korreliert (Pearson's Korrelationskoeffizient 0,8) (Paniccia, Antonucci et al. 2007, Varenhorst, James et al. 2009, Madsen, Saw et al. 2010). Die Multiplate®-Ergebnisse hingegen zeigten große Unterschiede in der Sensitivität, abhängig vom genutzten Agonisten (55-78 % beim Gebrauch von AA oder ADP) (Le Quellec, Bordet et al. 2016). Die Clopidogrel-Resistenz-Messung mittels PFA-100® zeigte sowohl mit AA-, als auch ADP-induzierten LTA eine schwache Korrelation und scheint somit kein geeignetes Verfahren zur Testung auf Clopidogrel-Resistenz zu sein (Gum, Kottke-Marchant et al. 2001, Golanski, Pluta et al. 2004, Harrison, Segal et al. 2005, Agarwal, Coakley et al. 2006, Mani, Linnemann et al. 2006, Lordkipanidze, Pharand et al. 2007, Paniccia, Antonucci et al. 2007). Die PFA-100®-Messung kann durch die neuere INNOVANCE PFA P2Y®-Kartusche mit 20 µg ADP, 5 ng PGE₁ und 459 µg Calciumchlorid verbessert werden. Diese Methodik könnte daher geeignet sein, eine spezifische Plättchenantwort auf Clopidogrel darzustellen (Spearman's Korrelationskoeffizient $r=0,51$ ($p < 0,001$)) (Tsantes, Ikonomidis et al. 2012). Die klinische Relevanz zur Erkennung von Risikopatienten ist jedoch bisher noch nicht angemessen untersucht (Le Quellec, Bordet et al. 2016).

Tsantes et al. zeigten eine geringe Korrelation zwischen INNOVANCE PFA P2Y® und LTA (74,4 %) und Multiplate® (75,6 %). Zur Feststellung einer bestehenden Plättchenaktivität lässt sich INNOVANCE PFA P2Y® statistisch mit der LTA und Multiplate® vergleichen (Tsantes, Ikonomidis et al. 2012).

Auch *Linnemann et al.* zeigten, dass INNOVANCE PFA P2Y® ein geeignetes System ist, die Clopidogrel-Wirkung zu überwachen. Dabei ist die Sensitivität zur Identifikation einer Clopidogrel-Resistenz vergleichbar mit der ADP-induzierten LTA (Linnemann, Schwonberg et al. 2010).

Jang et al. sahen zudem in der INNOVANCE PFA P2Y® eine vergleichbare Methode zur Verify Now®P2Y₁₂ (Jang, Lim et al. 2012).

Einig waren sich die genannten Autoren, dass es weitere klinische Studien benötigt, um das neue System auf die Prävention von klinischen Folgen zu untersuchen (Linnemann, Schwonberg et al. 2010, Jang, Lim et al. 2012).

2. Material und Methoden

2.1 Patientenkollektiv

Durch retrospektive Analyse wurden die im Behandlungsalltag erhobenen demographischen und klinischen Daten von achtundfünfzig konsekutiven Patienten ausgewertet, die zwischen Januar 2010 und Dezember 2015 behandelt worden waren. Unter den Patienten befanden sich achtunddreißig Frauen und zwanzig Männer mit einem mittleren Alter von 53,8 Jahren (Standardabweichung 13,8 Jahre; Spannbreite 22-79 Jahre).

2.2 Einschlusskriterien

Es wurden Patienten mit der Indikation zur elektiven neuroradiologischen Intervention (Coiling, Flow-Diverter oder Stentversorgung eines intrakraniellen Aneurysmas, oder einer ACI-Stenose) eingeschlossen. Die Patienten erhielten obligatorisch eine tägliche duale Plättchenhemmung bestehend aus 100 mg ASS und 75 mg Clopidogrel eine Woche vor der Intervention. Die Wirkung wurde mittels entsprechender Thrombozytenfunktionstests am Aufnahmetag durch Vorstellung in der Gerinnungsambulanz des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf überprüft. Die Patienten unterzogen sich drei Monate nach der Intervention einer routinemäßigen cMRT-Verlaufskontrolle.

2.3 Ausschlusskriterien

Ausschlusskriterien waren eine Thrombozytenzahl unter 50/nl und über 500/nl, ein Hämatokrit von unter 35 % und ein von-Willebrand-Syndrom.

2.4 Laborgewinnung und Methodendurchführung

Durch das Personal der Gerinnungsambulanz wurden unter minimaler Stauung mittels Butterfly-Venenpunktionsbesteck jeweils vier Citrat-, zwei PFA-100[®]-, ein EDTA- und ein Serum-Röhrchen abgenommen. Folgende Faktoren wurden bestimmt: Kleines Blutbild, klinische Chemie, Gerinnung, LTA: Aggregation unter 2 und 5 μ M ADP, Aggregation unter 1 und 5 μ g/ml Kollagen, Aggregation unter 1 mM Arachidonsäure, PFA-100[®]: Verschlusszeit mit Kollagen/Epinephrin, Verschlusszeit mit Kollagen/ADP und Verschlusszeit mit ADP/PGE₁. Im Folgenden wird auf die Methodik der LTA und PFA-100[®] eingegangen:

2.4.1 LTA

Für die LTA wird 10 ml Citratblut für die Aggregation benötigt. Nach primärer Bestimmung der Thrombozytenzahl wird das Blut maximal 10 Minuten nach Eintreffen mit 180 g bei Raumtemperatur zentrifugiert und das plättchenreiche Plasma sofort abgehoben. Bei niedriger Thrombozytenzahl wird mit 140 g zentrifugiert. Das plättchenreiche Plasma (PRP) wird anschließend für mind. 15 Minuten abgestellt. Vor Beginn der eigentlichen Testung wird nochmals die Thrombozytenzahl bestimmt. Hier gelten folgende Vorgehensweisen:

- Thrombozyten >600 MRD/l: PRP auf circa. 200 MRD/l verdünnen
- Thrombozyten <50 MRD/l: Aggregationstest nicht beurteilbar
- Thrombozyten 50-199/nl: Aggregation durchgeführt, aber nur semiquantitative Auswertung möglich

Die Messung der Thrombozytenaggregation darf frühestens 45 Minuten nach der Blutentnahme begonnen und spätestens 3 Stunden nach Blutentnahme abgeschlossen werden.

Die optische Aggregationsmessung erfolgte mit dem CHRONO-LOG[®] LUMI-AGGREGOMETER und den vorbereiteten Reagenzien: 2 und 5 μ M ADP, 1 und 5 μ g/ml Kollagen und 1 mM Arachidonsäure (M. Haberkorn 2013).

2.4.2 PFA-100®

Das Untersuchungsmaterial besteht aus gepuffertem Citratblut in PFA-100-Röhrchen. Es muss zwischen 30 Minuten und 4 Stunden nach Blutentnahme untersucht werden. Für die Messung wird mindestens 0,8 ml Vollblut benötigt. Störfaktoren sind unter anderem: Thrombozytenzahl unter 150 und über 500 MRD/l, Hämatokrit unter 30 %, von-Willebrand-Syndrom, Thrombozytenaggregate, Hämolyse, nicht optimale Blutentnahme, Rohrpostversand, zu lange Probenlagerung und Lagerung unter 10°C. Das Vollblut wird mittels des Dade® PFA-100 Gerätes des Herstellers Siemens und den vier Reagenzien PFA-100 COL/EPI-Messzelle, PFA-100 COL/ADP-Messzelle, INNOVANCE PFA P2Y-Messzelle und der PFA Start-Lösung untersucht. Die Messung bricht automatisch ab, wenn ein Wert von größer als 300 Sekunden erreicht wird und somit eine ausgeprägte Hemmung der Thrombozytenfunktion besteht (M. Haberkorn 2013).

2.5 Referenzmethoden und Richtwerte

Zur Beurteilung der ASS- und Clopidogrel-*Response* wurden die LTA und der PFA-100®-Test verwendet. Es erfolgte eine Testung mittels LTA: 2 und 5 µM ADP, 1 und 5 µg/ml Kollagen und 1 mM Arachidonsäure und PFA-100®: Kollagen/Epinephrin, Kollagen/ADP und ADP/PEG₁-Kartusche.

Die Studienlage zeigt, dass nicht jede Testung zur Beurteilung einer ASS- oder Clopidogrel-*Response* gleichermaßen gut geeignet ist.

2.5.1 ASS-Response

Zur Beurteilung der ASS-*Response* wurden 58 Patienten beobachtet. Es gilt die LTA mit Arachidonsäure als Goldstandard gefolgt von der PFA-100® mit Kollagen/Epinephrin-Kartusche (Wang, Bhatt et al. 2006). Testsysteme wie die PFA-100® mit Kollagen/ADP sind unabhängig von der Thromboxan A₂-Produktion und sind unter der ASS-Einnahme regulär nicht verlängert (Ulm 2010). Im Weiteren werden also die LTA (AA) und PF-100® (Kollagen/Epinephrin) miteinander verglichen.

Bei einer LTA (AA) von $\geq 20\%$ ist von einer ungenügenden ASS-Response auszugehen (Ben-Dor, Kleiman et al. 2009). Eine Verschlusszeit von ≤ 160 Sekunden in der PFA-100® (Kollagen/Epinephrin) zeigt eine ungenügende Plättchenhemmung durch ASS an (M. Haberkorn 2013). Sie sollte idealerweise bei > 300 Sekunden liegen.

2.5.2 Clopidogrel-Response

Zur Beurteilung der Clopidogrel-Response wurden 55 Patienten mittels LTA und 58 mittels PFA-100® untersucht. Es gelten die LTA mit ADP und die ADP/PGE₁-Kartusche als spezifische Testungen zur Feststellung einer Clopidogrel-Resistenz (Ben-Dor, Kleiman et al. 2009, Le Quellec, Bordet et al. 2016). Im Weiteren werden demnach diese zwei spezifischen Testungen miteinander verglichen.

Bei der LTA (2 μM ADP) besteht eine normale Plättchenaktivität bei Werten von 40-95 % (M. Haberkorn 2013). Unter Clopidogrel-Einnahme sollte die Plättchenaktivität folglich unter 40 % liegen. Somit liegt eine ungenügende Clopidogrel-Wirkung bei Werten $\geq 40\%$ vor. Besteht unter der 2 μM -Konzentration eine Plättchenaktivität $\leq 40\%$, wurde eine zusätzliche Testung mit 5 μM ADP unternommen. Der normale Referenzbereich liegt hier bei 70-100 %. Für die Überprüfung der Daten wurde der Test mit 2 μM statistisch untersucht, da dieser bei allen Patienten erfolgte.

Bei der PFA-100® (ADP/PGE₁) besteht eine normale Plättchenaktivität bei Werten bis 106 Sekunden (M. Haberkorn 2013). Unter ASS-Einnahme sollte die Plättchenaktivität folglich über 106 und bestenfalls bei über 300 Sekunden liegen. Somit liegt eine ungenügende ASS-Wirkung bei Werten unter 106 Sekunden vor.

2.6 Beurteilung der Laborergebnisse

Die Laborergebnisse wurden durch das ärztliche Personal der Gerinnungsambulanz im Sinne einer ASS- und/oder Clopidogrel-Resistenz bewertet. Die Ergebnisse der LTA und des PFA-100®-Tests wurden miteinander verglichen, wobei die LTA als Goldstandard angesehen wurde. Da die Ergebnisse der PFA-100® keinen linearen Zusammenhang haben, wurde ein Wert von > 300 Sekunden als ausreichende Plättchenhemmung und < 300 Sekunden als fragwürdig ungenügende Plättchenhemmung angesehen.

Eine erneute Testung wurde bei nicht kohärenten Ergebnissen und bei Werten < 300 Sekunden bei der PFA-100[®] veranlasst. Therapiemodifikationen wie eine *Loading-Dose* von 300 mg, Verdopplung der Tagesdosis auf 150 mg Clopidogrel oder die Gabe von Aggrenox[®] (Dipyridamol, Acetylsalicylsäure) wurden vorgenommen, wenn eine ungenügende Plättchenhemmung bestand. Der Erfolg wurde mit Hilfe einer weiteren Blutabnahme am Folgetag überprüft. Unabhängig von der ärztlichen Bewertung wurden in der aktuellen Arbeit die Laborergebnisse mit denen von uns festgelegten Cut-off-Werten retrospektiv analysiert und hinsichtlich des Vorliegens einer Resistenz untersucht.

2.7 Bestimmung von Risikofaktoren

Folgende potentielle Einflussfaktoren wurden mit dem Vorliegen einer ASS- und/oder Clopidogrel-Resistenz assoziiert: Demographische Daten (Alter und Geschlecht), Körpermaßindex (BMI), sowie Begleitmedikamente und Grunderkrankungen.

2.8 Nachbeobachtung (*Follow-up*)

In einem dreimonatigen Nachbeobachtungszeitraum wurden retrospektiv die folgenden klinischen Endpunkte ausgewertet: Kardiovaskulärer Tod, Stentthrombose, nicht-letaler Myokardinfarkt und Apoplex. Im Folgenden beziehen sich die Bezeichnungen „negatives Ergebnis“ und „negatives Ereignis“ auf diese Endpunkte.

2.9 Statistische Analyse

Nach Extraktion der Laborbefunde sowie der relevanten patienten- und krankheitsbezogenen Parameter erfolgte die Charakterisierung des Studentenkollektivs mittels deskriptiver Statistik. Zur Identifizierung von potentiellen Risikofaktoren kamen der Chi-Quadrat-Test, der T-Test und die multivariate Korrelationsanalyse zum Einsatz.

3. Ergebnisse

3.1 Patientencharakteristika

Demographische Daten	n= 58
Alter, Jahre MW ± SAW	53,8 ± 13,8
Geschlecht, weiblich (%)	65,5
BMI, kg/m ² MW ± SAW	25,9 ± 4,7
Kardiovaskuläre Vorerkrankungen, (%)	
Arterieller Hypertonus	39,7
KHK	5,2
Arterielle Gefäßstenosen	8,6
Myokardinfarkt	5,2
Schlaganfall	6,9
Venöse Thromboembolie	1,7
Begleiterkrankungen, (%)	
Diabetes mellitus	6,9
Hyperlipidämie	10,3
Begleitmedikation, (%)	
Statine	25,9
Betablocker	17,2
ACE-Hemmer	24,1
Calciumkanalblocker	20,7
Protonenpumpenhemmer	39,7
Regelmäßig NSAR	10,3

Table 2: Patientencharakteristika

3.1.1 Demographische Daten

Achtundfünfzig Patienten wurden in die Auswertung eingeschlossen. Das mittlere Alter lag bei 53,8 Jahren (Spannweite: 22–79 Jahre). Achtunddreißig Patienten waren weiblich (65,5 %). Der durchschnittliche BMI lag bei $25,9 \pm 4,7 \text{ kg/m}^2$ (Mittelwert \pm Standardabweichung).

3.1.2 Kardiovaskuläre Vorerkrankungen

Siebenundzwanzig Patienten (46,7 %) litten an kardiovaskulären Vorerkrankungen; bei 10 (17,2 %) war mehr als eine kardiovaskuläre Vorerkrankung bekannt. Dreiundzwanzig von 58 Patienten hatten einen arteriellen Hypertonus (39,7 %), drei (5,2 %) eine KHK und fünf arterielle Gefäßstenosen (8,6 %). Bei drei Patienten (5,2 %) war in der Vorgeschichte ein Myokardinfarkt aufgetreten, bei vier (6,9 %) ein Apoplex und bei einem (1,7 %) eine venöse Thromboembolie (1,7 %).

3.1.3 Andere Begleiterkrankungen

Vier Patienten (6,9 %) hatten einen Diabetes mellitus und sechs Patienten (10,3 %) eine Hyperlipidämie. Bei drei Patienten (5,2 %) traf die Definition des metabolischen Syndroms zu (Adipositas, arterieller Hypertonus, Hyperlipidämie und Diabetes mellitus Typ 2).

3.1.4 Begleitmedikation

Am häufigsten war die Einnahme von Protonenpumpenhemmern, die 23 Patienten (39,7 %) angaben, gefolgt von Statinen (15 Patienten; 25,9 %) und ACE-Hemmern (14 Patienten; 24,1 %). Calciumkanalblocker wurden von zwölf Patienten (20,7 %), Betablocker von zehn Patienten (17,2 %) und NSAR von sechs Patienten (10,3 %) eingenommen.

3.2 Resistenz-Häufigkeiten

	LTA	PFA-100 [®]	gesamt
ASS-Resistenz	0	5 (8,6)	5 (8,6)
Clopidogrel-Resistenz	23 (41,8)	7 (12,1)	23 (41,8)

Tabelle 3: Resistenz-Häufigkeiten n (%)

Mittels LTA (Plättchenaggregation nach Stimulation mit 1 mM Arachidonsäure) wurde bei keinem Patienten eine ASS-Resistenz festgestellt, während der PFA-100[®]-Test mit der Kollagen/Epinephrin-Kartusche bei fünf Patienten (8,6 %) eine ASS-Resistenz zeigte. Insgesamt 23 Patienten (41,8 %) erfüllten in der LTA (Plättchenaggregation nach Stimulation mit 2 µM ADP) die Kriterien für eine Clopidogrel-Resistenz, während der PFA-100[®]-Test mit der ADP/PGE₁-Kartusche bei sieben Patienten (12,1 %) keine entsprechende Verlängerung der Verschlusszeit zeigte. Jeder dieser sieben Patienten wurde auch mit der LTA als resistent eingestuft (Tabelle 3).

3.3 Subgruppenanalyse

3.3.1 ASS-Resistenz-Messung

Klinische Charakteristika bezogen auf die ASS-Resistenz-Messung mittels PFA-100[®] (Kollagen/Epinephrin-Kartusche) Tabelle 4

Anhand der Ergebnisse des PFA-100[®]-Tests wurde das Patientenkollektiv in die beiden Subgruppen "ASS-sensitiv" (n=53) und "ASS-resistent" (n=5) unterteilt. Eine ASS-Resistenz lag bei einer Verschlusszeit von ≤ 160 Sekunden vor.

3.3.1.1 Demographische Daten

Patienten mit einer im PFA-100[®]-Test festgestellten ASS-Resistenz waren im Durchschnitt fünf Jahre älter (58,8 vs. 53,4 Jahre; $p=0,404$). ASS-sensitive Patienten waren häufiger weiblich als ASS-resistente (67,9 vs. 40,0 %; $p=0,209$) und hatten durchschnittlich einen geringeren BMI (25,7 vs. 28,0 kg/m²; $p=0,298$). Allerdings erreichte keiner dieser Unterschiede eine statistische Signifikanz.

3.3.1.2 Kardiovaskuläre Vorerkrankungen

ASS-resistente (vs. ASS-sensitive) Patienten hatten zu 60,0 vs. 37,7 % ($p=0,331$) einen arteriellen Hypertonus. Sie waren zudem zu 20,0 vs. 3,8 % ($p=0,117$) an einer KHK erkrankt und hatten zu 40,0 vs. 3,8 % ($p=0,002$) einen Apoplex in der Vorgeschichte. Keiner der ASS-resistenten Patienten hatte arterielle Gefäßstenosen (vs. 9,4 %; $p=0,472$), einen Myokardinfarkt (vs. 5,7 %; $p=0,585$) oder eine venöse Thromboembolie (vs. 1,9 %; $p=0,757$) in der Anamnese.

3.3.1.3 Begleiterkrankungen

ASS-resistente Patienten hatten zu 20,0 vs. 5,7 % ($p=0,226$) einen Diabetes mellitus und zu 20 vs. 9,4 % ($p=0,458$) eine Hyperlipidämie (vs. 9,4 %; $p=0,458$).

3.3.1.4 Begleitmedikation

ASS-resistente Patienten hatten eine umfangreichere Begleitmedikation: 60,0 vs. 22,6 % ($p=0,068$) nahmen Statine ein, 20,0 vs. 17,0 % ($p=0,864$) Betablocker und 40,0 vs. 22,6% ($p=0,386$) ACE-Hemmer. Calciumkanalblocker wurden zu 20,0 vs. 21,0 % ($p=0,968$), Protonenpumpenhemmer zu 60,0 vs. 37,7 % ($p=0,331$) und NSAR zu 60,0 vs. 5,7 % ($p<0,001$) eingenommen.

Demographische Daten	ASS-sensitiv (n=53)	ASS-resistent (n=5)	p-Wert
Alter, Jahre MW ± SAW	53,4 ± 14,0	58,8 ± 10,7	0,404
Geschlecht, weiblich n (%)	36 (67,9)	2 (40,0 %)	0,209
BMI, kg/m ² MW ± SAW	25,7 ± 4,7	28,0 ± 5,2	0,298
Kardiovaskuläre Vorerkrankungen, n (%)			
Arterieller Hypertonus	20 (37,7)	3 (60,0)	0,331
KHK	2 (3,8)	1 (20,0)	0,117
Arterielle Gefäßstenosen	5 (9,4)	0	0,472
Myokardinfarkt	3 (5,7)	0	0,585
Schlaganfall	2 (3,8)	2 (40,0)	0,002
Venöse Thromboembolie	1 (1,9)	0	0,757
Begleiterkrankungen, n (%)			
Diabetes mellitus	3 (5,7)	1 (20,0)	0,226
Hyperlipidämie	5 (9,4)	1 (20,0)	0,458
Begleitmedikation, n (%)			
Statine	12 (22,6)	3 (60,0)	0,068
Betablocker	9 (17,0)	1 (20,0)	0,864
ACE-Hemmer	12 (22,6)	2 (40,0)	0,386
Calciumkanalblocker	11 (21,0)	1 (20,0)	0,968
Protonenpumpenhemmer	20 (37,7)	3 (60,0)	0,331
Regelmäßig NSAR	3 (5,7)	3 (60,0)	<0,001

Tabelle 4: Demographische und klinische Patientencharakteristika bezogen auf die ASS-Resistenz-Messung mittels PFA-100® (Kollagen/Epinephrin-Kartusche) ; p-Wert mittels Chi-Quadrat oder t-Test

Klinische Charakteristika bezogen auf die ASS-Resistenz-Messung mittels LTA (Plättchenaggregation nach Stimulation mit Arachidonsäure)

Eine entsprechende Subgruppenanalyse wurde an dieser Stelle nicht unternommen, da kein Patient mit Hilfe der LTA als ASS-resistent eingestuft wurde.

3.3.2 Clopidogrel-Resistenz-Messung

Klinische Charakteristika bezogen auf die Clopidogrel-Resistenz-Messung mittels PFA-100® (ADP/PGE₁-Kartusche) Tabelle 5

Unter Verwendung der ADP/PGE₁-Kartusche fand sich im PFA-100®-Test bei sieben Patienten (12,1 %) eine Clopidogrel-Resistenz, während die übrigen 51 Patienten (87,9 %) als Clopidogrel-sensitiv definiert wurden. Eine Clopidogrel-Resistenz lag bei einer Verschlusszeit von ≤ 106 Sekunden vor.

3.3.2.1 Demographische Daten

Im Durchschnitt waren die Patienten mit Clopidogrel-Resistenz 10 Jahre älter als die Clopidogrel-sensitiven Patienten (62,3 vs. 52,7 Jahre; $p=0,084$). In beiden Gruppen waren mehr Frauen als Männer vertreten: 57,1 % in der Clopidogrel-resistenten und 66,7 % in der Clopidogrel-sensitiven Gruppe ($p=0,619$). Der mittlere BMI war bei den Clopidogrel-resistenten Patienten geringfügig höher (27,4 vs. 25,7 kg/m²; $p=0,361$).

3.3.2.2 Kardiovaskuläre Vorerkrankungen

Ein arterieller Hypertonus lag bei 71,4 % der Clopidogrel-resistenten und bei 35,3 % der Clopidogrel-sensitiven Patienten vor ($p=0,067$), während eine KHK bei 14,3 vs. 3,9 % der Patienten bekannt war ($p=0,246$). Im Vergleich zur Clopidogrel-sensitiven Gruppe wiesen etwa doppelt so viele Patienten in der Clopidogrel-resistenten Gruppe arterielle Gefäßstenosen auf (14,3 vs. 7,8 %; $p=0,568$). Ein Myokardinfarkt war bei 14,3 vs. 3,9 % (Clopidogrel-resistent vs. Clopidogrel-sensitiv) der Patienten ($p=0,246$) und ein Apoplex bei 14,3 vs. 5,9 % der Patienten ($p=0,411$) bekannt. Eine venöse Thromboembolie war bei keinem der Clopidogrel-resistenten und nur bei einem der Clopidogrel-sensitiven Patienten (0 vs. 2,0 %) aufgetreten ($p=0,709$).

3.3.2.3 Begleiterkrankungen

Von den Clopidogrel-resistenten Patienten gaben jeweils 28,6 % in der Anamnese einen Diabetes mellitus (vs. 3,9 %; p=0,016) oder eine Hyperlipidämie (vs. 7,8 %; p=0,091) an.

3.3.2.4 Begleitmedikation

In der Clopidogrel-resistenten Gruppe wurden insgesamt häufiger Medikamente eingenommen als in der Clopidogrel-sensitiven Gruppe: Statine in 71,4 vs. 19,6 % (p=0,003) und Protonenpumpenhemmer in 57,1 vs. 37,3 % (p=0,313) der Fälle. ACE-Hemmer wurden von 42,9 vs. 21,6 % (p=0,217), Betablocker von 14,3 vs. 17,6 % (p=0,825) und Calciumkanalblocker von 28,6 vs. 19,6 % (p=0,583) der Patienten eingenommen. Eine regelmäßige Einnahme von NSAR wurde von 14,3 % der Patienten in der Clopidogrel-resistenten und von 9,8 % der Patienten in der Clopidogrel-sensitiven Gruppe angegeben (p=0,715).

Demographische Daten	Clopidogrel-sensitiv (n=51)	Clopidogrel-resistent (n=7)	p-Wert
Alter, Jahre MW ± SAW	52,7 ± 13,7	62,3 ± 11,9	0,084
Geschlecht, weiblich (%)	34 (66,7 %)	4 (57,1 %)	0,619
BMI, kg/m ² MW ± SAW	25,7 ± 4,6	27,4 ± 5,3	0,361
Kardiovaskuläre Vorerkrankungen, n (%)			
Arterieller Hypertonus	18 (35,3)	5 (71,4)	0,067
KHK	2 (3,9)	1 (14,3)	0,246
Arterielle Gefäßstenosen	4 (7,8)	1 (14,3)	0,569
Myokardinfarkt	2 (3,9)	1 (14,3)	0,246
Schlaganfall	3 (5,9)	1 (14,3)	0,411
Venöse Thromboembolie	1 (2)	0	0,709
Begleiterkrankungen, n (%)			

Diabetes mellitus	2 (3,9)	2 (28,6)	0,016
Hyperlipidämie	4 (7,8)	2 (28,6)	0,091
Begleitmedikation, n (%)			
Statine	10 (19,6)	5 (71,4)	0,003
Betablocker	9 (17,6)	1 (14,3)	0,825
ACE-Hemmer	11 (21,6)	3 (42,9)	0,217
Calciumkanalblocker	10 (19,6)	2 (28,6)	0,583
Protonenpumpenhemmer	19 (37,3)	4 (57,1)	0,313
Regelmäßig NSAR	5 (9,8)	1 (14,3)	0,715

Tabelle 5: Demographische und klinische Patientencharakteristika bezogen auf die Clopidogrel-Resistenz-Messung mittels PFA-100® (ADP/PGE₁-Kartusche); p-Wert mittels Chi-Quadrat oder t-Test

Klinische Charakteristika bezogen auf die Clopidogrel-Resistenz-Messung mittels LTA (Plättchenaggregation nach Stimulation mit ADP) Tabelle 6

Dreiundzwanzig Patienten wurden mittels LTA (Stimulation mit 2 µM ADP) als Clopidogrel-resistent und 32 als Clopidogrel-sensitiv eingestuft. Drei Patienten aus dem Kollektiv erhielten keine Messung mittels 2 µM ADP. Clopidogrel-Resistenz lag bei einer residualen Plättchenaggregation von ≥ 40 % vor.

3.3.2.5 Demographische Daten

Clopidogrel-resistente Patienten waren im Durchschnitt drei Jahre älter als Clopidogrel-sensitive Patienten (55,7 vs. 52,9 Jahre; $p=0,479$). Der Anteil weiblicher Patienten lag in den Gruppen bei 65,2 vs. 68,6 % ($p=0,783$) und der durchschnittliche BMI bei 26,5 vs. 25,2 kg/m² ($p=0,343$).

3.3.2.6 Kardiovaskuläre Vorerkrankungen

In der Gruppe der Clopidogrel-resistenten Patienten lag bei 47,8 vs. 31,3 % ein arterieller Hypertonus vor ($p=0,210$). Jeweils ein Patient in beiden Gruppen hatte eine KHK (4,3 vs.

3,1 %; $p=0,811$). Arterielle Gefäßstenosen waren bei 21,7 vs. 9,4 % der Patienten bekannt ($p=0,479$). Myokardinfarkte waren bei zwei Patienten (8,7 %) in der Clopidogrel-resistenten Gruppe und bei keinem Patienten in der Clopidogrel-sensitiven Gruppe aufgetreten ($p=0,089$). Jeweils ein Patient in der Clopidogrel-resistenten Gruppe (4,3 %) hatte einen Apoplex (vs. 9,4 %; $p=0,479$) oder eine venöse Thromboembolie (vs. 0 %; $p=0,234$) in der Anamnese.

3.3.2.7 Begleiterkrankungen

In der Clopidogrel-resistenten Gruppe hatten drei Patienten (13,0 %) und in der Clopidogrel-sensitiven Gruppe ein Patient (3,1 %) einen Diabetes mellitus ($p=0,162$). Eine Hyperlipidämie lag tendenziell häufiger bei Clopidogrel-resistenten Patienten vor (17,4 vs. 3,1 %; $p=0,069$).

3.3.2.8 Begleitmedikation

Bezüglich der Begleitmedikation war der Gebrauch von Protonenpumpenhemmern in beiden Gruppen mit jeweils elf Patienten am häufigsten (47,8 vs. 34,4 %; Clopidogrel-resistent vs. Clopidogrel-sensitiv; $p=0,315$). Unter den Clopidogrel-resistenten Patienten nahmen 30,4 vs. 25,0 % ($p=0,655$) Statine und 30,4 vs. 18,8 % ($p=0,314$) ACE-Hemmer ein. Der Gebrauch von Betablockern war in der Clopidogrel-sensitiven Gruppe mit 18,8 vs. 13,0 % ($p=0,162$) etwas häufiger, während die Einnahme von Calciumkanalblockern von 25,0 vs. 17,4 % ($p=0,500$) der Patienten angegeben wurde und die regelmäßige Einnahme von NSAR von 12,5 vs. 4,3 % ($p=0,300$) der Patienten.

Demographische Daten	Clopidogrel-sensitiv (n=32)	Clopidogrel-resistent (n=23)	p-Wert
Alter, Jahre MW \pm SAW	52,9 \pm 13,5	55,7 \pm 14,9	0,479
Geschlecht, weiblich n (%)	22 (68,8)	15 (65,2)	0,783
BMI, kg/m ²			

MW ± SAW	25,2 ± 4,3	26,5 ± 5,3	0,343
Kardiovaskuläre Vorerkrankungen, n (%)			
Arterieller Hypertonus	10 (31,3)	11 (47,8)	0,212
KHK	1 (3,1)	1 (4,3)	0,811
Arterielle Gefäßstenosen	3 (9,4)	5 (21,7)	0,479
Myokardinfarkt	0	2 (8,7)	0,089
Schlaganfall	3 (9,4)	1 (4,3)	0,479
Venöse Thromboembolie	0	1 (4,3)	0,234
Begleiterkrankungen, n (%)			
Diabetes mellitus	1 (3,1)	3 (13,0)	0,162
Hyperlipidämie	1 (3,1)	4 (17,4)	0,069
Begleitmedikation, n (%)			
Statine	8 (25,0)	7 (30,4)	0,655
Betablocker	6 (18,8)	3 (13,0)	0,573
ACE-Hemmer	6 (18,8)	7 (30,4)	0,314
Calciumkanalblocker	8 (25,0)	4 (17,4)	0,500
Protonenpumpenhemmer	11 (34,4)	11 (47,8)	0,315
Regelmäßig NSAR	4 (12,5)	1 (4,3)	0,300

Tabelle 6: Demographische und klinische Patientencharakteristika bezogen auf die Clopidogrel-Resistenz-Messung mittels LTA (ADP-induzierte Plättchenaggregation); p-Wert mittels Chi-Quadrat oder t-Test

3.4 Vergleich von anderen relevanten Laborergebnissen

Das kleine Blutbild des Kollektivs wurde herangezogen, um mögliche Einflüsse auf die Messungen zu detektieren. Es zeigte sich, dass ASS-resistente vs. ASS-sensitive Patienten (beurteilt mittels PFA-100®) einen Hb-Wert von 13,4 vs. 13,8 g/dl (p=0,556) und Clopidogrel-resistente vs. Clopidogrel-sensitive (beurteilt mittels LTA) Patienten einen Hb-Wert von 13,7 vs. 13,9 (p=0,700) aufwiesen. Der Hämatokrit-Wert lag bei ASS-resistenten Patienten bei 39,8 vs. 41,0 % (p=0,540) und bei Clopidogrel-resistenten Patienten bei 40,0 vs. 41,4 % (p=0,190). Zuletzt wurde die Thrombozytenzahl evaluiert, die bei ASS-resistenten Patienten im Durchschnitt bei 185,2 vs. 248,8 x 10⁹/l (p= 0,087) und bei Clopidogrel-resistenten Patienten bei 241,3 vs. 244,5 x 10⁹/l (p=0,879) lag (Tabelle 7).

	ASS - resistent	ASS- sensitiv	p-Wert	Clopidogrel- resistent	Clopidogrel- sensitiv	p-Wert
Hb, g/dl MW ± SAW	13,4± 1,8	13,8±1,6	0,556	13,7 ±2,1	13,9±1,2	0,700
Hämatokrit, % MW ± SAW	39,8±5,2	41,0±4,0	0,540	40 ±4,1	41,4 ±4,0	0,190
Thrombozyten, 1 x 10⁹/l MW ± SAW	185,2 ±45,4	248,8 ±80,0	0,087	241,3± 72,5	244,5 ±84,6	0,879

Tabelle 7: Vergleich hämatologischer Parameter zwischen den Patientengruppen; p-Wert mittels t-Test

3.5 Variabilität der Plättchenantwort unter ASS

3.5.1 Variabilität der Plättchenantwort unter ASS: LTA

Achtundfünfzig Patienten wurden auf eine ASS-Resistenz mittels LTA

(Plättchenaggregation nach Stimulation mit 1 mM Arachidonsäure) getestet. Bei allen 58 Patienten (100 %) wurde formal eine suffiziente ASS-Wirkung nachgewiesen (residuale Plättchenaggregation ≤ 20 %).

Bei 49 Patienten (84,5 %) war die Plättchenaggregation auf 0-10 % und bei neun Patienten (15,5 %) auf 10-20 % vermindert (Abbildung 8).

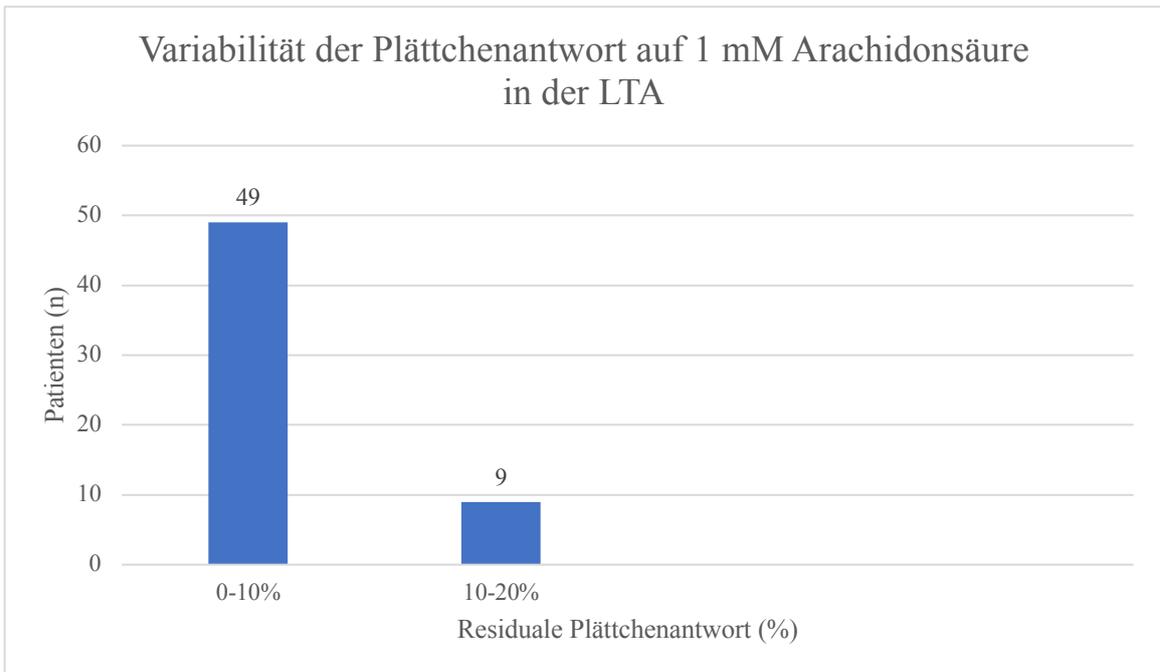


Abbildung 8: Variabilität der residualen Plättchenaggregation (%) auf 1 mM Arachidonsäure in der LTA

3.5.2 Variabilität der Plättchenantwort unter ASS: PFA-100®

Dieselben 58 Patienten wurden zusätzlich mit dem PFA-100®-Test unter Verwendung der Kollagen/Epinephrin-Kartusche untersucht.

Der größte Teil der Patienten zeigte eine maximal verlängerte Verschlusszeit von > 300 Sekunden (49 Patienten, 84,5 %). Zwei Patienten (3,4 %) zeigten eine Verschlusszeit von 200-300 Sekunden und sieben Patienten (12,1 %) eine Verschlusszeit von 100-200 Sekunden.

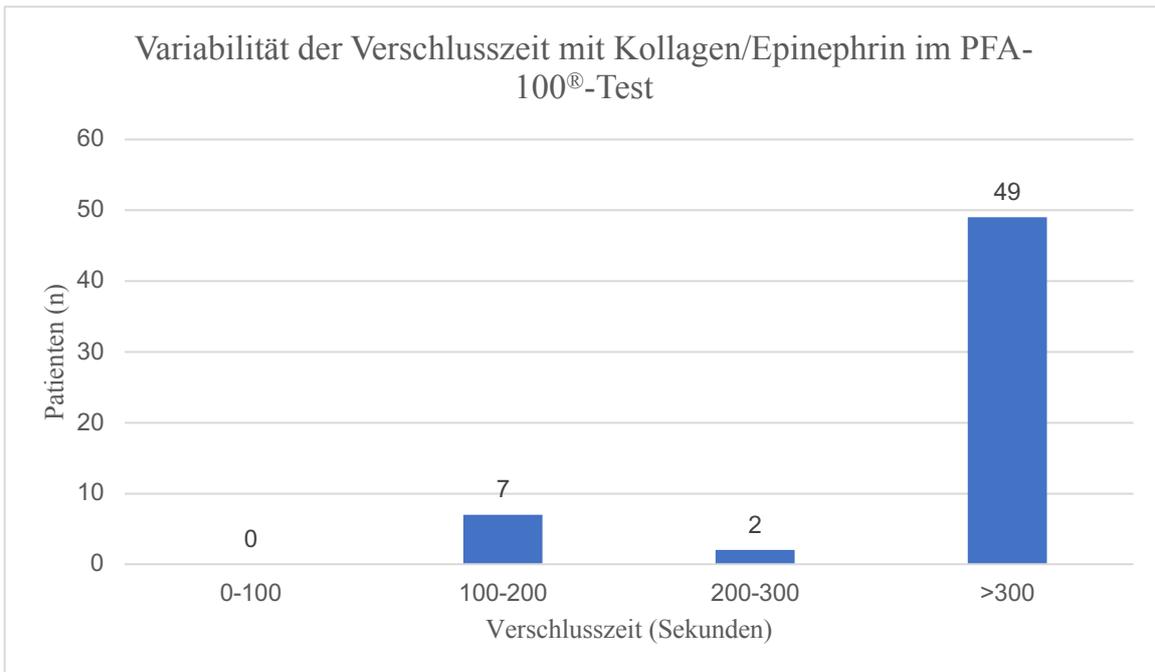


Abbildung 9: Variabilität der Verschlusszeit (Sekunden) mit Kollagen/Epinephrin im PFA-100®-Test

3.6 Variabilität der Plättchenantwort unter Clopidogrel

3.6.1 Variabilität der Plättchenantwort unter Clopidogrel: LTA

Bei 55 Patienten wurde die LTA nach Born mit dem Agonisten ADP 2 μ M durchgeführt. Nach Unterteilung in elf Subgruppen zeigte sich, dass kein Patient eine residuale Plättchenaggregation von < 10 % aufwies. Vier Patienten (7,3 %) zeigten eine residuale Aggregation von 10-19 %. 15 Patienten (27,3 %) hatten eine residuale Aggregation von 20-29 %, 13 (23,6 %) von 30-39 %, 13 (23,6 %) von 40-49 %, fünf (9,1 %) von 50-59 %, 2 (3,6 %) von 60-69 %, keiner von 70-79 %, einer (1,8 %) von 80-89 %, einer (1,8 %) von 90-99 % und einer (1,8 %) von 100 % (Abbildung 10).

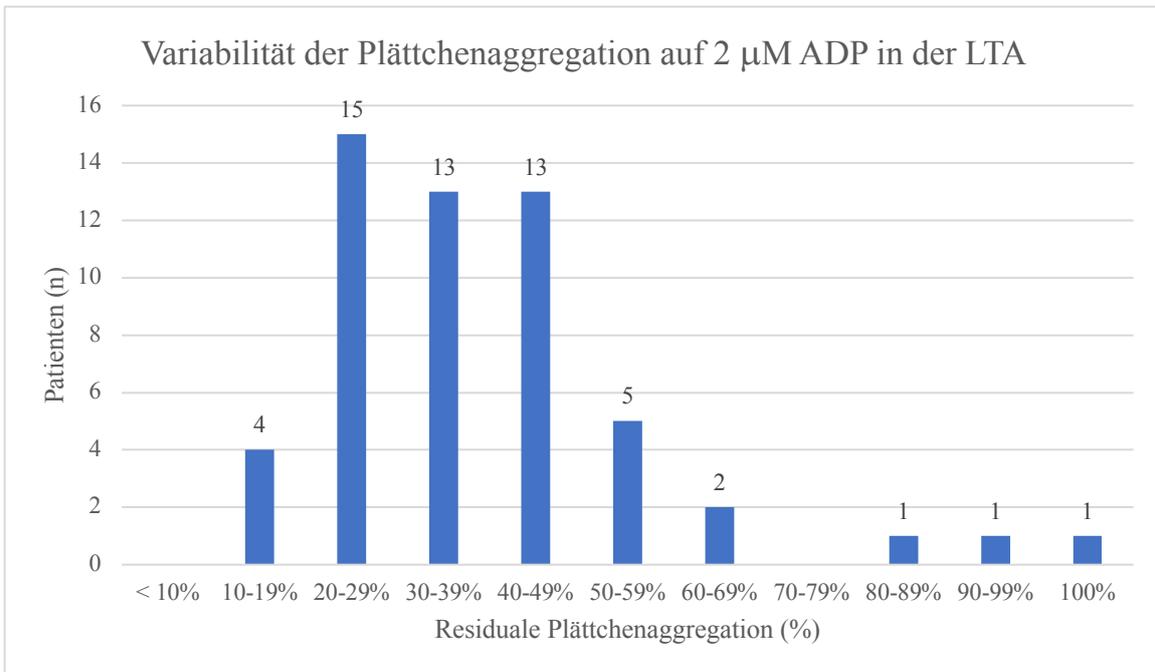


Abbildung 10: Variabilität der residualen Plättchenaggregation (%) mit 2 μ M ADP in der LTA

3.6.2 Variabilität der Plättchenantwort unter Clopidogrel: PFA-100®

Mittels ADP/PGE₁-Kartusche zeigte sich, dass der größte Teil der Patienten (51 Patienten, 87,9 %) mit einer maximal verlängerten Verschlusszeit von > 300 Sekunden reagierte. Fünf Patienten (8,6 %) wiesen eine Verschlusszeit von 0-100 Sekunden und zwei Patienten (3,4 %) eine Verschlusszeit von 100-200 Sekunden auf. Kein Patient hatte eine PFA-100®-Verschlusszeit von 200-300 Sekunden (Abbildung 11).

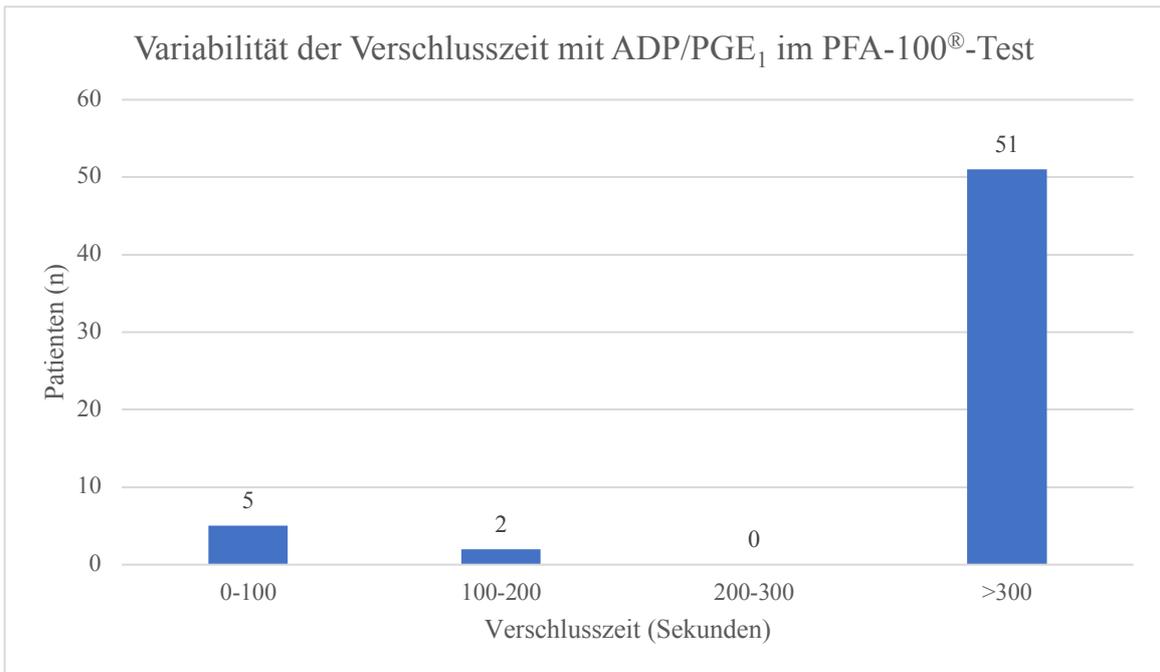


Abbildung 11: Variabilität der Verschlusszeit (Sekunden) mit ADP/PGE₁ im PFA-100®-Test

3.7 Korrelation der Testmethoden

3.7.1 ASS-Resistenz-Messung

Von allen 58 Patienten wurden die Ergebnisse der LTA mit Arachidonsäure und des PFA-100®-Tests mit der Kollagen/Epinephrin-Kartusche miteinander in Korrelation gesetzt. Das Ergebnis zeigte einen Korrelationskoeffizienten nach Pearson von 0,158 (Abbildung 12).

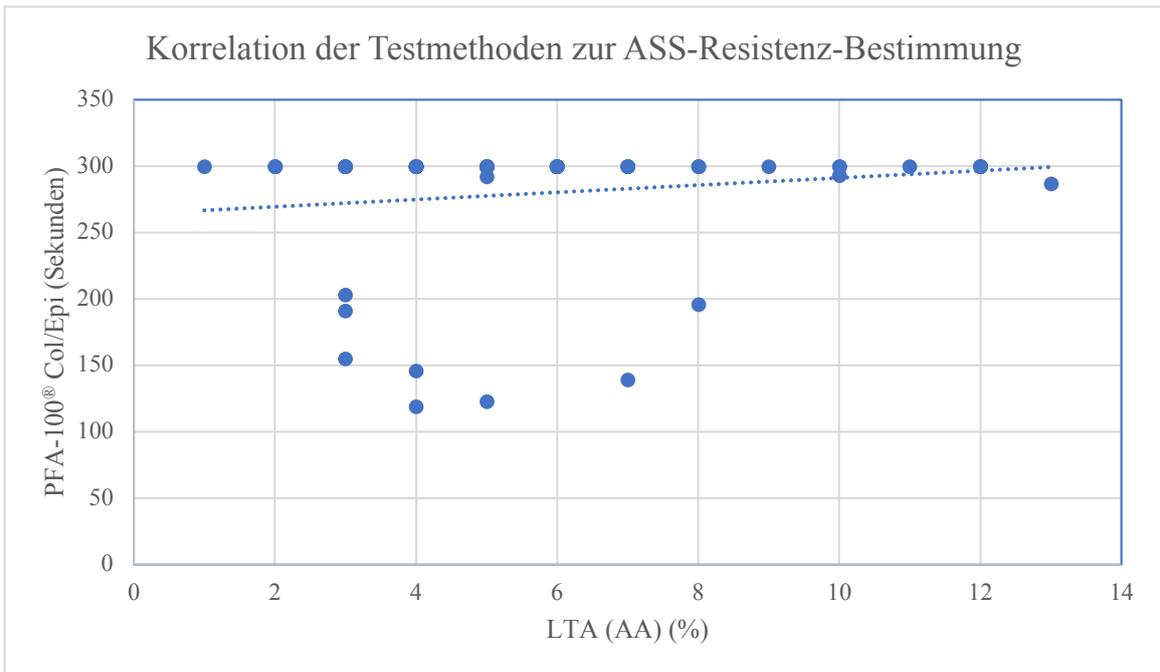


Abbildung 12: LTA mit Arachidonsäure (%) und PFA-100® mit Kollagen/Epinephrin (Sekunden)

3.7.2 Clopidogrel-Resistenz-Messung

Fünfundfünfzig Ergebnispaare aus den Messungen der LTA mit 2 µM ADP und dem PFA-100®-Test mit der ADP/PGE₁-Kartusche wurden ausgewertet. Der berechnete Korrelationskoeffizient nach Pearson lag bei -0,329 (p= 0.014) (Abbildung 13).

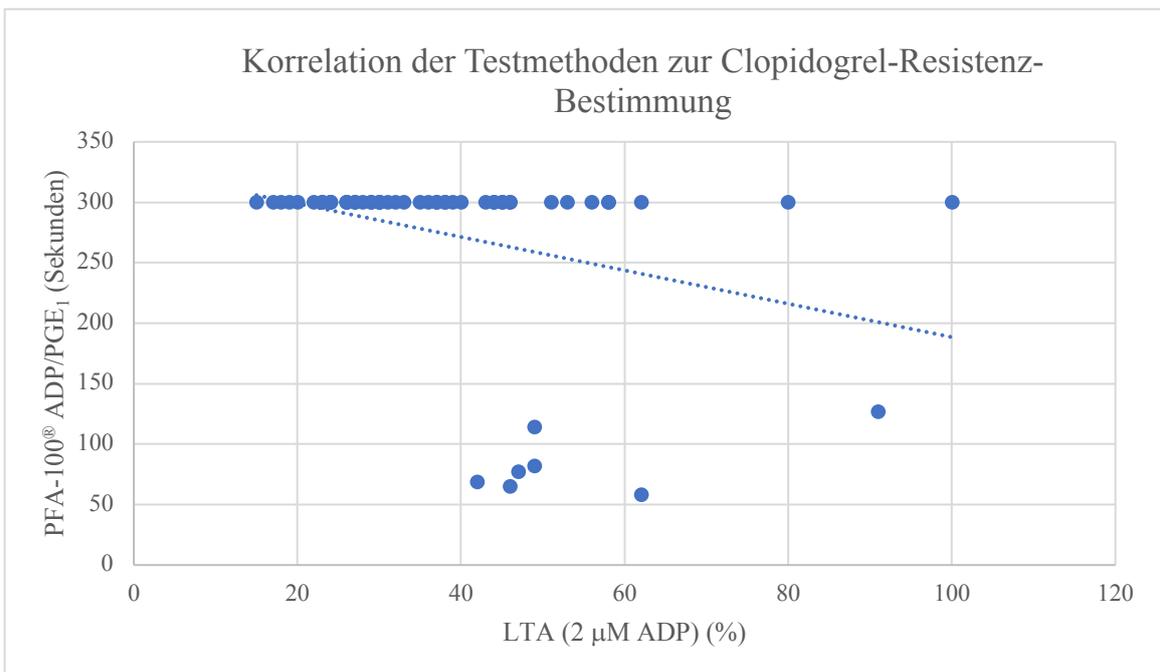


Abbildung 13: LTA mit 2µM ADP (%) und PFA-100® mit ADP/PGE₁-Kartusche (Sekunden)

3.8 Klinisches Ergebnis

Aus den Testungen gingen fünf Patienten mit einer mittels PFA-100[®] (Kollagen/Epinephrin) detektierten ASS-Resistenz hervor. Kein Patient wurde mittels LTA (1 mM Arachidonsäure) als ASS-resistent detektiert. Aus den Testungen gingen außerdem mittels LTA (2 µM ADP) 23 und mittels PFA-100[®] (ADP/PGE₁) sieben Clopidogrel-resistente Patienten hervor. Diese sieben Patienten waren auch mit der LTA (2 µM ADP) als resistent eingestuft worden. Drei Patienten zeigten sich als ASS- und Clopidogrel-resistent. Hiervon waren drei über die LTA als resistent und nur einer zusätzlich über die PFA-100[®] als resistent eingeteilt worden (Tabelle 8).

	ASS-resistent	Clopidogrel-resistent	ASS- und Clopidogrel-resistent
PFA-100[®] (Kollagen/Epinephrin)	5		3
LTA (1 mM Arachidonsäure)	0		0
LTA (2 µM ADP)		23	3
PFA-100[®] (ADP/PGE₁)		7	1

Tabelle 8: Übersicht resistenter Patienten

Von den 58 untersuchten Patienten erschienen 55 zur Nachkontrolle nach drei Monaten. Alle Patienten nach Coil-/Flow-Diverter-Versorgung erhielten eine Nachkontrolle. Zwei Patienten nach Stent-Einlage hatten keine Nachkontrolle. Ein Patient wurde nach wiederholter Dokumentation einer Clopidogrel-Resistenz nicht operiert. Insgesamt traten vier Schlaganfälle, zwei Stentthrombosen und kein Myokardinfarkt auf.

Der Großteil der Patienten (89 %) zeigte ein unauffälliges Ergebnis, während 7 % der Patienten einen Hirninfarkt erlitten. Davon ereigneten sich drei postinterventionell und einer periinterventionell.

Bei 4 % der Patienten trat zudem eine Stentthrombose innerhalb der Beobachtungsphase auf.

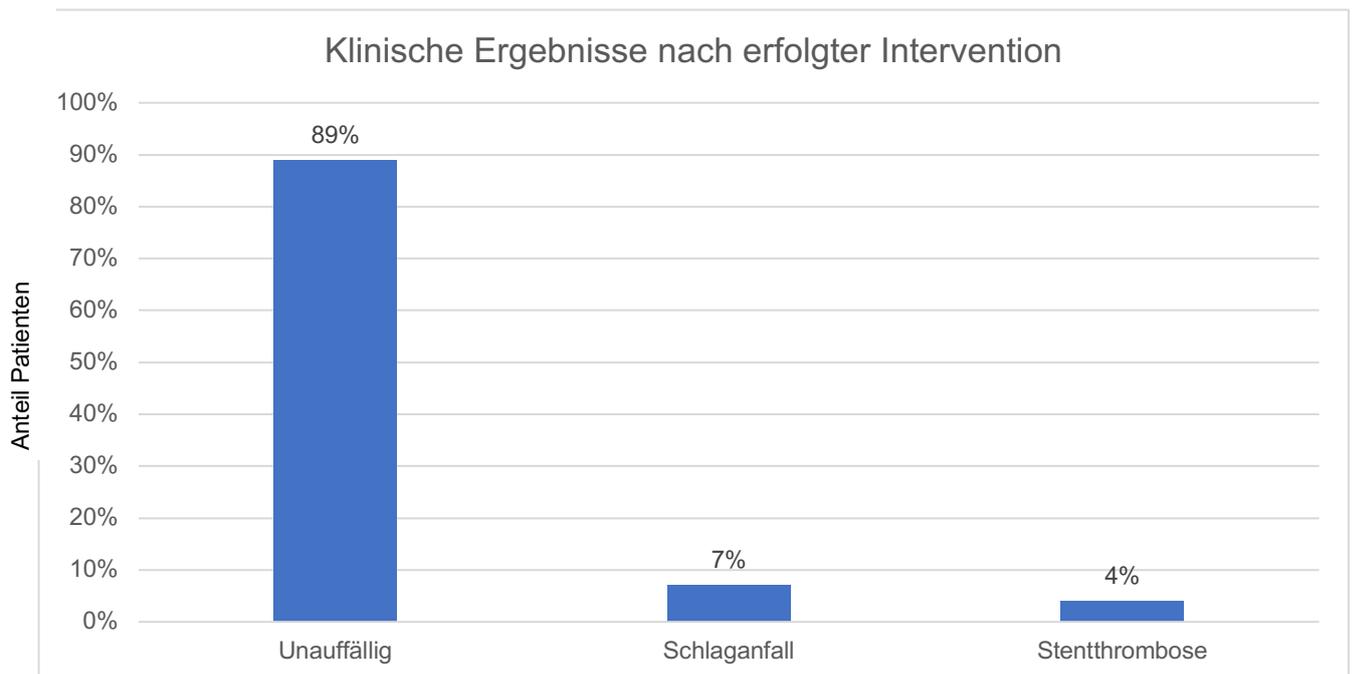


Abbildung 14: Klinische Ergebnisse nach erfolgter Intervention

3.8.1 ASS-Resistenz: Klinisches Ergebnis nach auffälligem PFA-100®-Test mit Kollagen/Epinephrin

Fünf Patienten wurden mittels PFA-100®-Test und kein Patient mittels LTA als ASS-resistent definiert. Einer dieser fünf Patienten (20 %) erlitt einen Schlaganfall, wobei gleichzeitig eine Clopidogrel-Resistenz festgestellt worden war.

Nach Pearson besteht mit einem Korrelationseffizienten von $\kappa = -0,06$ ($p = 0,66$) keine signifikante Korrelation zwischen einer ASS-Resistenz und dem Auftreten einer Stentthrombose. Auch bestand keine signifikante Korrelation zwischen einer ASS-Resistenz und dem Auftreten eines Schlaganfalls $\kappa = 0,15$, ($p = 0,267$).

3.8.2 Clopidogrel-Resistenz: Klinisches Ergebnis nach auffälliger LTA mit 2 μM ADP

Dreiundzwanzig Patienten (41,8 %) zeigten eine auffällige LTA mit Werten ≥ 40 % und wurden somit als Clopidogrel-resistent definiert. Ein Patient wurde aufgrund einer

bestehenden Resistenz nicht operiert. Von den verbleibenden 22 Patienten erlitten vier Patienten (18,2 %) eine thromboembolische Komplikation in Form von drei Infarkten und einer Stentthrombose. Die übrigen 81,8 % der Patienten hatten hingegen einen unkomplizierten Verlauf (Abbildung 15).

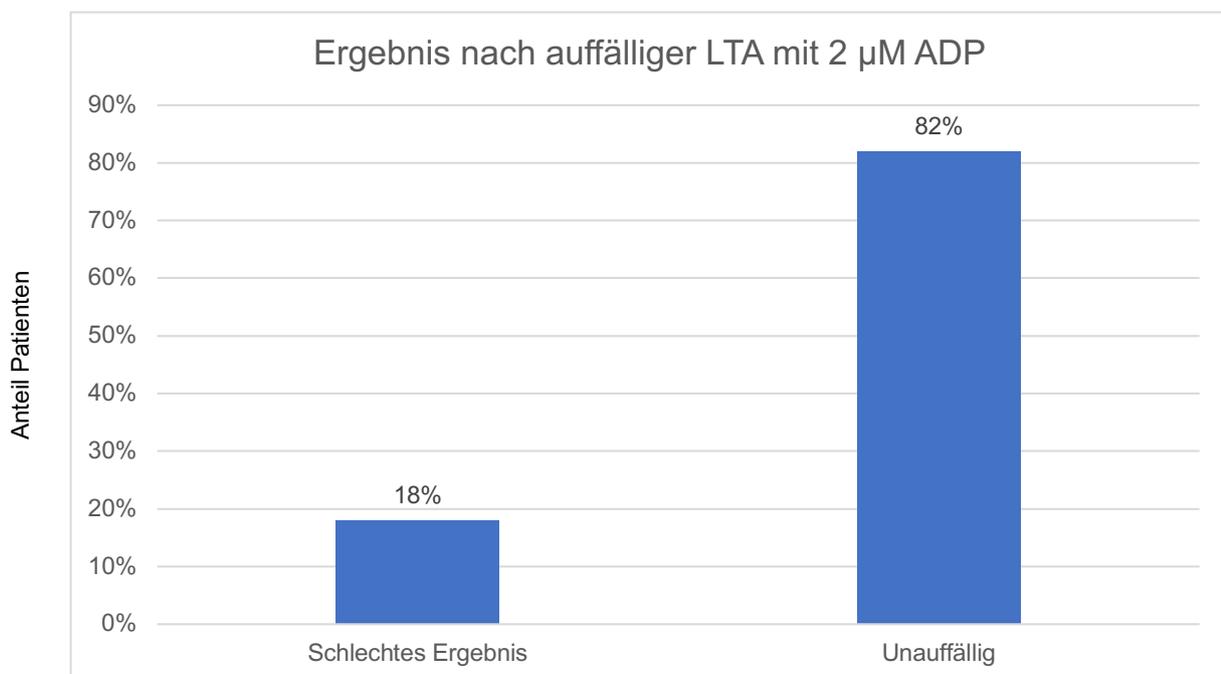


Abbildung 15: Klinisches Ergebnis nach auffälliger LTA und erfolgter Intervention

Mit einem Korrelationskoeffizienten nach Pearson von $\kappa = 0,03$ ($p = 0,83$) zeigte sich keine Korrelation zwischen einer Clopidogrel-Resistenz (mittels LTA bestimmt) und dem Auftreten einer Stentthrombose. Keine Korrelation zeigte sich auch zwischen einer Clopidogrel-Resistenz und dem Auftreten eines Schlaganfalls ($\kappa = 0,19$; $p = 0,19$).

3.8.3 Clopidogrel-Resistenz: Klinisches Ergebnis nach auffälliger PFA-100® (ADP/PGE1)

Sieben Patienten zeigten eine auffällige PFA-100® -Testung (ADP/PGE₁) mit Werten unter 106 Sekunden und wurden somit als Clopidogrel-resistent definiert. Alle Patienten waren zudem auch mit der LTA (2 µM ADP) als resistent definiert worden. Von diesen sieben Patienten wurde einer ausgeschlossen, da dieser aufgrund einer weiterhin bestehenden

Clopidogrel-Resistenz nicht operiert werden konnte. Von den übrigen sechs Patienten erlitt einer einen Schlaganfall und einer eine Stenose. Somit erlitten 33,3 % der Patienten nach auffälliger PFA-100®-Testung (ADP/PGE₁) eine Komplikation (Abbildung 16).

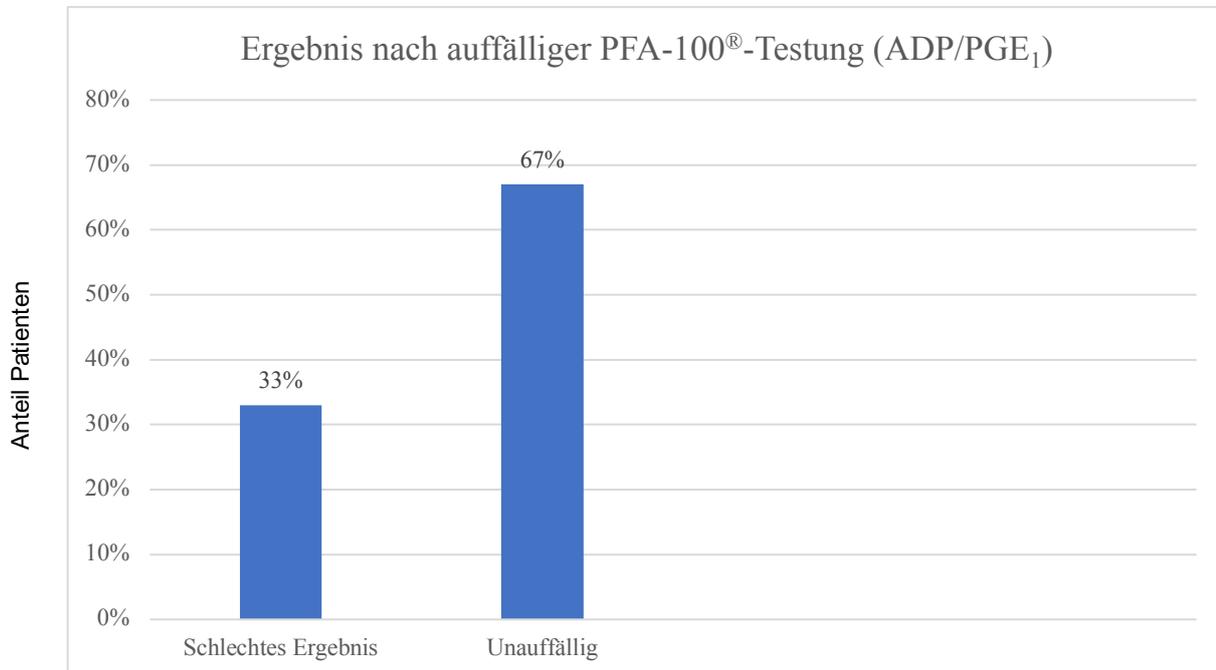


Abbildung 16: Klinisches Ergebnis nach auffälliger PFA-100®) und erfolgter Intervention

Mit einem Korrelationskoeffizienten nach Pearson von $\kappa=0,24$ ($p=0,07$) zeigte sich eine schwache Korrelation zwischen einer Clopidogrel-Resistenz (mittels PFA-100® bestimmt) und dem Auftreten einer Stentthrombose. Keine Korrelation zeigte sich hingegen zwischen einer Clopidogrel-Resistenz und dem Auftreten eines Schlaganfalls ($\kappa=0,12$; $p=0,37$).

3.9 Therapiemanagement

Sieben Patienten wurden aufgrund ihrer Diagnostik (LTA und PFA-100®) von den ärztlichen Mitarbeitern/innen der Gerinnungsambulanz als Clopidogrel-resistent gewertet. Ein Patient zeigte zusätzlich eine ASS-Resistenz. Zwei von sieben Patienten (28,6 %) erhielten eine Aufsättigungsdosis von 300 mg Clopidogrel vor der Intervention, vier Patienten (57,1 %) eine doppelte Dosis von 150 mg Clopidogrel pro Tag und ein Patient mit zusätzlicher ASS-Resistenz zusätzlich zu 100 mg ASS und 150 mg Clopidogrel eine Dosis Aggrenox® (25 mg Acetylsalicylsäure + 200 mg Dipyridamol) pro Tag. So gelang es, dass 6/7 Patienten (85,7 %) nach erneuter Testung operiert werden konnten. Von diesen

Patienten erlitten zwei Patienten (33,3 %) einen Infarkt und eine Stentthrombose. Einer dieser zwei war zusätzlich ASS-resistent.

Patient	ASS R	CLO R	Therapiemodifikation	Prozedur ausgeführt	Ergebnis
1		x	LD: 300 mg Clopidogrel	Ja	+
2	x	x	ASS 100 mg/d, Clopidogrel 150 mg/d, Aggrenox® 1 x/d	Ja	+
3		x	LD: 300 mg Clopidogrel	Nein	
4		x	Clopidogrel 150 mg/d	Ja	+
5		x	Clopidogrel 150 mg/d	Ja	+
6		x	Clopidogrel 150 mg/d	Ja	Stentthrombose
7	x	x	Clopidogrel 150 mg/d	Ja	Infarkt

Tabelle 9: Therapieumstellung und Ergebnis nach Resistenz-Feststellung durch ärztliches Personal; ASS R: ASS-Resistenz; CLO R: Clopidogrel-Resistenz; LD: Loading Dose; +: positives Ergebnis

4. Diskussion

Die pharmakologische Hemmung der Thrombozytenfunktion ist Standard in der (Rezidiv-) Prophylaxe kardio- und zerebrovaskulärer Ereignisse. Wichtigste Medikamente in dieser Indikation sind Acetylsalicylsäure (ASS) und Antagonisten des ADP-Rezeptors P2Y₁₂ (z.B. Clopidogrel). Obwohl das Konzept einer ASS-Resistenz umstritten ist, scheint die üblicherweise eingesetzte Dosis von 100 mg/Tag nicht bei allen Patienten gleich wirksam zu sein. Auch ist bekannt, dass in 15–30 % der Fälle die Standarddosis von Clopidogrel (75 mg/Tag) zu keiner ausreichenden Hemmung des P2Y₁₂-Rezeptors führt. Die Gründe hierfür sind multifaktoriell und können neben einer verminderten Resorption eine eingeschränkte hepatische Bioaktivierung oder eine ungenügende Wirksamkeit des aktiven Metaboliten durch kompensatorische Signalwege oder Mutationen im P2Y₁₂-Rezeptor betreffen. Deshalb hat die Überprüfung der Wirksamkeit von ASS und Clopidogrel im klinischen Behandlungsalltag zunehmend an Bedeutung gewonnen.

Am UKE erhalten Patienten vor einer elektiven zerebrovaskulären Intervention (z. B. Stenting einer kritischen Gefäßstenose oder Ausschaltung eines inzidentellen Aneurysmas mittels Coiling oder Flow-Diverter) standardmäßig eine duale Aggregationshemmung mit ASS 100 mg und Clopidogrel 75 mg/Tag täglich, wobei die Einnahme beider Medikamente eine Woche vor dem Eingriff begonnen wird. Die meisten dieser Patienten stellen sich vor der Intervention in der Gerinnungsambulanz zur Überprüfung der ASS- und Clopidogrel-*Response* vor. Dabei kommen zwei Testsysteme zum Einsatz: Der PFA-100[®]-Test (sog. In-vitro-Blutungszeit) und die Plättchenaggregometrie nach Born (oder auch Lichttransmissionsaggregometrie). Die Lichttransmissionsaggregometrie (LTA) wird aktuell zwar als Goldstandard angesehen; der Test ist aber zeitintensiv und kann nicht als sog. Bedside-Test durchgeführt werden (Wang, Bhatt et al. 2006). Der PFA-100[®]-Test hingegen zeichnet sich durch seine schnelle und einfache Handhabung aus, ist jedoch abhängig von vWF, Hämatokrit und Thrombozytenzahl (Edwards, Jakubowski et al. 2012).

4.1 Identifikation einer Resistenz

Primäres Ziel dieser Arbeit war es, beide Testsysteme hinsichtlich der Identifikation von Patienten, die eine ungenügende ASS- und/oder Clopidogrel-Response zeigten, zu vergleichen.

4.1.1 Prävalenz und Variabilität der Plättchenantwort

ASS-Resistenz

Die Ergebnisse der Plättchenantwort unter ASS-Einnahme sind abhängig von der Methode und den verwendeten Agonisten sowie von deren Konzentration (Lordkipanidze, Pharand et al. 2007). So zeigten *Lordkipanidze et al.*, dass die ASS-Resistenz insgesamt eine Prävalenz von 2,8–59,5 % haben kann, während der PFA-100[®]-Test eine Prävalenz von 59,5 % und die LTA mit Arachidonsäure (AA) eine Prävalenz von 10,3–51,7 % liefert (Lordkipanidze, Pharand et al. 2007). Unsere Analyse zeigte eine ASS-Resistenz in 8,6 %, was sich mit der aktuellen Literatur deckt. Auffällig war aber, dass alle Patienten durch den PFA-100[®]-Test und kein Patient durch die LTA als resistent eingestuft wurden. Die graphische Darstellung der Plättchenantwort machte deutlich, dass die PFA-100[®]-Ergebnisse relativ weit streuten (Abbildung 9). Mit einem Cut-off-Wert von ≤ 160 Sekunden zeigten zwar 84,5 % der Patienten eine maximale Hemmung der Thrombozytenfunktion (Verschlusszeit mit der Kollagen/Epinephrin-Kartusche > 300 Sekunden); bei 3,4 % der Patienten lag die Verschlusszeit aber bei 200–300 Sekunden und bei 12,1 % der Patienten bei 100–200 Sekunden. Im Vergleich hierzu lieferten die LTA-Ergebnisse mit einem Cut-off-Wert von ≥ 20 % eine geringe Varianz (Abbildung 8). Es befanden sich alle Patienten in einem adäquaten Bereich der Plättchenhemmung. Diese Gegenüberstellung soll verdeutlichen, dass eine mittels PFA-100[®] identifizierte ASS-Resistenz kritisch überdacht werden sollte, da diese Methodik ungenaue Ergebnisse liefert. Die Studie von *Kovács et al.* stützt diese Hypothese, indem sie zeigt, dass bei solchen Patienten keine „richtige“ ASS-Resistenz existiert, da alle eine acetylierte Form der COX-1 aufweisen (Kovacs, Katona et al. 2014). Dies würde bedeuten, dass die 8,6 % der Patienten, die in unserer Analyse mit dem PFA-100[®]-Tests als resistent definiert wurden, sehr wahrscheinlich alle eine acetylierte COX-1 aufwiesen und somit formal ASS-sensitiv

wären. Daher müsste es Faktoren geben, die auf den PFA-100[®]-Test, nicht jedoch auf die LTA(AA) einwirken. *Kovács et al.* gaben hierfür mehrere Erklärungsversuche an:

1. Eine bereits vor der ASS-Einnahme gesteigerte Plättchenaktivität
2. Eine COX-1-unabhängige residuale Plättchenantwort
3. Eine verstärkte Neubildung von Thrombozyten
4. Eine durch die Thrombozytenzahl und den Hämatokrit beeinflusste Verschlusszeit
5. Eine *Non-Compliance*

Der Hämatokrit und die Thrombozytenzahl zeigten in unserer Arbeit keine Korrelation mit der Prävalenz einer ASS-Resistenz.

Schlussfolgernd ist hier festzuhalten, dass die LTA(AA) weiterhin als bevorzugter Test zur Identifikation einer ASS-Resistenz eingesetzt werden sollte. Für spätere Arbeiten könnte es von Vorteil sein, die Plättchenantwort bereits vor der ASS-Einnahme zu messen und den Basiswert dann mit dem Wert unter der Therapie zu vergleichen. Zusätzlich könnte die Acetylierung der COX-1 überprüft werden, um festzustellen, ob es sich um eine Resistenz im klassischen Sinn handelt. Ob dies im klinischen Alltag wirtschaftlichen und zeitlichen Vorgaben gerecht werden kann, ist in Frage zu stellen. Alternativ wäre eine Stufendiagnostik denkbar, die zunächst die PFA-100[®] und anschließend die LTA(AA) vorsieht.

Clopidogrel-Resistenz

Analog zur Identifikation einer ASS-Resistenz ist auch die Messung der Plättchenantwort unter Clopidogrel-Einnahme abhängig von der Methode, der Konzentration des verwendeten Agonisten und den gewählten Cut-off-Werten. So zeigten *Breet et al.*, dass die Prävalenz der Clopidogrel-Resistenz mit der LTA als diagnostischem Goldstandard bei 14,9 % liegt, wenn ADP in einer Konzentration von 5 µM verwendet wird, und bei 13,0 %, wenn ADP in einer Konzentration von 20 µM verwendet wird (*Breet, van Werkum et al. 2011*). In unserer Arbeit waren durch die LTA mit 2 µM ADP 41,8 % der Patienten als Clopidogrel resistent definiert worden. *Linnemann et al.* wählten einen vergleichbaren Ansatz: Bei Verwendung von 2 µM ADP waren 27,3 % der Patienten und somit 14,5 % weniger als in unserer Studie als Clopidogrel-resistent eingestuft worden (*Linnemann,*

Schwonberg et al. 2010). Auch definierten *Linnemann et al.* einen ähnlichen Cut-off-Wert wie in unserer Studie. Die Autoren nahmen an, dass eine *Non-Response* vorliegt, wenn die residuale Plättchenaggregation trotz Clopidogrel-Einnahme $\geq 42,9\%$ beträgt (in dieser Arbeit $\geq 40\%$) (Linnemann, Schwonberg et al. 2010).

In unserer Studie wurden nur 30,4 % der mittels LTA als Clopidogrel-resistent definierten Patienten auch mit dem PFA-100[®]-Test als resistent eingestuft. Bei Betrachtung der Variabilität der Plättchenantwort in der LTA wird deutlich, dass mit diesem Test viele Patienten als resistent eingestuft wurden und eine große Streubreite der Werte vorliegt (Abbildung 10). Angesichts der Tatsache, dass zudem nur 12,7 % durch beide Tests, LTA und PFA-100[®], als resistent definiert wurden, ist es fraglich, ob die LTA mit 2 μM ADP überhaupt als Goldstandard weiterverfolgt werden sollte. Bei Betrachtung des klinischen Verlaufs der als Clopidogrel-resistent eingestuften Patienten wird deutlich, dass nur 18 % eine vaskuläre Komplikation erlitten. Folglich wäre zu evaluieren, inwieweit eine Veränderung des Cut-off-Wertes eine bessere Vorhersage von klinischen Ereignissen erlauben würde. Wenn der Cut-off-Wert auf $\geq 50\%$ angehoben würde, wären infolgedessen nur noch 10 von 55 Patienten (18,2 %) als Clopidogrel-resistent einzustufen. Verglichen mit der Studie von *Madsen et al.*, die unter Einsatz von 5 μM ADP und eines Cut-off-Wertes von $\geq 50\%$ bei 7,7 % der Patienten eine Clopidogrel-Resistenz nachwies, wird deutlich, dass hier adaptiert an die ADP-Konzentrationen ähnliche Prävalenzen für die Clopidogrel-Resistenz vorliegen. Es wäre jedoch zu prüfen, ob die prognostische Aussagekraft hierdurch verbessert werden kann. Werden die 13 Patienten, die durch das Heraufsetzen des Cut-off-Wertes nun als Clopidogrel-sensitiv eingestuft wurden, betrachtet, zeigten nur 76,9 % eine maximal verlängerte Verschlusszeit von > 300 Sekunden im PFA-100[®]-Test. Zusätzlich erlitten 23,1 % der 13 Patienten eine vaskuläre Komplikation. Danach sollte von einer Erhöhung des Cut-off-Wertes zugunsten einer besseren prognostischen Aussagekraft eher abgesehen werden. Zusätzlich untersuchten wir, ob eine Herabsetzung des Cut-off-Wertes auf $\geq 30\%$ eine bessere Treffsicherheit erbringen würde und schlossen somit 13 Patienten mehr in das Kollektiv der Clopidogrel-resistenten Patienten ein. Von den 13 Patienten erhielten 12 eine bildgebende Verlaufskontrolle. Bei keinem dieser Patienten wurde eine vaskuläre Komplikation festgestellt, sodass geschlussfolgert werden kann, dass auch ein Herabsetzen des Cut-off-Wertes in der LTA(ADP) keine Vorteile mit sich bringt.

Der PFA-100[®]-Test mit ADP/PGE₁ erbrachte im Vergleich zur LTA mit 12,1 % eine

niedrige Clopidogrel-Resistenz-Prävalenz. Nach auffälliger Messung erlitten hier 33,3 % der Patienten in Form eines Schlaganfalls oder einer Stenose eine vaskuläre Komplikation. Alle Patienten, die mittels PFA-100® als resistent eingestuft wurden, wurden auch mittels LTA als resistent eingestuft (Tabelle 10).

Somit lieferte der PFA-100®-Test eine etwas bessere prognostische Vorhersage als die LTA. Dennoch kann aufgrund der geringen Patientenzahlen keine abschließende Aussage über den klinischen Zusammenhang getroffen werden. Die Kombination aus PFA-100® und LTA war in Bezug auf die Detektion einer vaskulären Komplikation bei Clopidogrel-Resistenz gleichwertig zur alleinigen PFA-100®-Messung.

	ASS-Resistent	Schlechtes Ergebnis	Clopidogrel-Resistent	Schlechtes Ergebnis
PFA-100®	5/58 (8,6 %)	1/5 (20 %) (alle auch Clopidogrel-resistent)	7/58 (12,1 %) (alle auch mittels LTA-resistent)	2/6 (33,3 %)
LTA	0	-	23/55 (41,8 %)	4/22 (18,2 %)
PFA-100® + LTA	-	-	7/58(12,1 %)	2/6 (33,3 %)

Tabelle 10 Klinisches Outcome nach Resistenz-Feststellung

4.1.2 Korrelation der Testmethoden

Bestimmung der ASS-Resistenz

Werden die LTA mit Arachidonsäure (AA) und der PFA-100®-Test mit der Kollagen/Epinephrin-Kartusche in Zusammenhang gesetzt, findet sich ein Korrelationskoeffizient von 0,158 (p=0237) und somit keine Korrelation zwischen den beiden Testmethoden. Auch andere Autoren zeigten, dass diese beiden

Untersuchungsverfahren nicht in Korrelation zu bringen sind. *Lordkipanidze et al.* führten einen Korrelationskoeffizienten von $\kappa = -0,12$ und *Harrison et al.* einen Korrelationskoeffizienten von $\kappa = 0,09$ an (Harrison, Segal et al. 2005, Lordkipanidze, Pharand et al. 2007).

Bestimmung der Clopidogrel-Resistenz

Werden die die LTA mit 2 μM ADP und der PFA-100[®]-Test mit der ADP/PGE₁-Kartusche in Zusammenhang gesetzt, ergibt sich ein Korrelationskoeffizient von $\kappa = -0,329$ ($p = 0,014$). Hier besteht demnach ein schwacher, jedoch statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen den beiden Methoden. Da die ADP/PGE₁-Kartusche bisher nur in wenigen Studien verwendet worden ist, finden sich in der Literatur nur vereinzelte Vergleichswerte. Einer davon ist der von *Tsantes et al.*, die auch eine geringe Übereinstimmung (74,4 %) zwischen den beiden Tests feststellten (Tsantes, Ikonomidis et al. 2012).

4.2 Identifikation von demographischen und klinischen Einflussfaktoren

Sekundäres Ziel war es, demographische und klinische Einflussfaktoren zu identifizieren, die mit einer Resistenz einhergehen.

4.2.1 ASS-Resistenz

Die aktuelle Literatur nennt vor allem folgende mögliche Ursachen für eine (scheinbare) ASS-Resistenz:

1. Fehlende *Compliance*
2. Unterdosierung bzw. nicht adäquate Dosierung
3. Genetische Variabilität: Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNPs)
4. Medikamenteninteraktionen mit PPI oder NSAR
5. Erhöhte Plättchenaktivität (z. B. durch OP, myeloproliferative Syndrome, Trauma)

6. COX-1-unabhängige Signalwege der Plättchenaktivierung

Zum Untersuchungsumfang dieser Arbeit gehörten demographische Daten, kardiovaskuläre Vorerkrankungen, Begleiterkrankungen und Begleitmedikationen.

4.2.1.1 Demographische Daten

Es konnte kein Zusammenhang zwischen Alter, Geschlecht oder BMI und einer ASS-Resistenz hergestellt werden.

4.2.1.2 Kardiovaskuläre Vorerkrankungen

Das Auftreten einer erhöhten Plättchenaktivität trotz ASS-Einnahme konnte nicht mit einem arteriellen Hypertonus, einer KHK, arteriellen Gefäßstenosen, einem Myokardinfarkt oder einer venösen Thromboembolie in der Vorgeschichte in Verbindung gebracht werden. Lediglich ein Schlaganfall in der Anamnese zeigte einen signifikanten Zusammenhang ($p=0,002$). Was mit einer zuvor erhöhten Plättchenaktivität einhergehen könnte.

4.2.1.3 Begleiterkrankungen

Weder ein Diabetes mellitus noch eine Hyperlipidämie konnten mit dem Auftreten einer ASS-Resistenz assoziiert werden.

4.2.1.4 Begleitmedikation

Es zeigte sich, dass die Einnahme von Statinen, Betablockern, ACE-Hemmern, Calciumkanalblockern und Protonenpumpenhemmern nicht signifikant in Zusammenhang mit einer ASS-Resistenz steht. Allerdings fand sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen der regelmäßigen Einnahme von NSAR und einer ASS-Resistenz.

Wurtz et al. zeigten eine relevante residuale Plättchenaggregation bei Patienten unter Einnahme von Protonenpumpenhemmern (Wurtz, Grove et al. 2010), die in der aktuellen Arbeit nicht festgestellt werden konnte. Es sollte jedoch beachtet werden, dass die *Wurtz et al.-Studie* ein Patientenkollektiv von 418 Patienten umfasste und eine weitere Studie von *Charlot et al.* mit einem ähnlichen Ergebnis aus 19.925 Patienten bestand. Die vorliegende Arbeit umfasste deutlich weniger Patienten und lieferte weitere Hinweise dafür, dass es eine Verbindung zwischen dem Auftreten einer ASS-Resistenz und der regelmäßigen Einnahme von NSAR gibt. Dieser Zusammenhang wurde bereits von einigen anderen Autoren evaluiert. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass eine stetige Einnahme von NSAR wie z.B. Ibuprofen die Wirkung von ASS abschwächen oder sogar aufheben kann (Catella-Lawson, Reilly et al. 2001, Hennekens, Schneider et al. 2010). Die Begründung liegt darin, dass Ibuprofen reversibel an die selbe Bindungsstelle von COX-1 bindet und somit die Acetylierung durch ASS verhindert (Hudson, Baron et al. 2005). Somit erklärt sich auch, warum diese Beobachtung nicht bei Diclofenac gemacht wurde: Diclofenac zeigt eine geringere Wirkstärke und eine kürzere Wirkdauer und bindet an eine andere, weiter entfernte Bindungsstelle als Ibuprofen (Catella-Lawson, Reilly et al. 2001, Hudson, Baron et al. 2005).

4.2.2 Clopidogrel-Resistenz

Die aktuelle Literatur führt die folgenden möglichen Ursachen für eine Clopidogrel-Resistenz auf:

1. Fehlende *Compliance*
2. Unterdosierung bzw. nicht adäquate Dosierung
3. Medikamenteninteraktionen mit Statinen, Protonenpumpenhemmern und Calciumkanalblockern
4. Genetische Variabilität: CYP2C19*2-Polymorphismus, P2Y₁₂-Rezeptor-Haplotyp

Zum Untersuchungsumfang dieser Arbeit gehörten demographische Daten, kardiovaskuläre Vorerkrankungen, Begleiterkrankungen und Begleitmedikationen.

4.2.2.1 Demographische Daten

Es konnte kein Zusammenhang zwischen Alter, Geschlecht oder BMI und einer Clopidogrel-Resistenz festgestellt werden.

4.2.2.2. Kardiovaskuläre Vorerkrankungen

Keine der in dieser Arbeit erfassten kardiovaskulären Vorerkrankungen konnte in einen Zusammenhang mit dem Auftreten einer Clopidogrel-Resistenz gebracht werden.

4.2.2.3 Begleiterkrankungen

Ein Diabetes mellitus in der Anamnese war im PFA-100[®]-Test mit einem p-Wert von 0,016 signifikant mit einer residualen Plättchenantwort assoziiert. In der LTA zeigte sich dagegen kein signifikanter Zusammenhang ($p=0,162$). Eine Hypothese für eine erhöhte Plättchenaktivität wäre, dass es bei Diabetes mellitus zu einem erhöhten Anteil von unreifen Thrombozyten kommt, die nicht adäquat auf Clopidogrel reagieren. Die Hyperlipidämie war in beiden Testsystemen nicht signifikant mit dem Auftreten einer Clopidogrel-Resistenz assoziiert ($p=0,091$).

4.2.2.4 Begleitmedikation

Bezüglich der Begleitmedikation fand sich, dass in der LTA kein Medikament in Zusammenhang mit einer Clopidogrel-Resistenz gebracht werden konnte. Lediglich die Einnahme von Statinen war im PFA-100[®]-Test signifikant mit dem Auftreten einer Clopidogrel-Resistenz assoziiert ($p=0,003$).

Statine und Clopidogrel nutzen überlappende Metabolisierungswege im Cytochrom P450-System, sodass die gleichzeitige Einnahme von Statinen zu einer erhöhten residualen Plättchenaktivität unter der Einnahme von Clopidogrel führen kann (Trenk, Hochholzer et al. 2008, Schmidt, Johansen et al. 2012). Diese Beobachtung konnte bereits in mehreren Studien gemacht werden. Die klinische Relevanz dieses Zusammenhangs ist jedoch bisher nicht abschließend geklärt. In unserer Studie zeigte der störungsanfälliger PFA-100[®]-Test einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Einnahme von Statinen und dem

Auftreten einer Clopidogrel-Resistenz, während die LTA diesen Zusammenhang nicht zeigte. Insgesamt müssen die Ergebnisse jedoch aufgrund des relativ kleinen Patientenkollektivs kritisch hinterfragt werden.

Zudem sind die in der Literatur publizierten Ergebnisse mitunter widersprüchlich. Auf der einen Seite finden sich Hinweise dafür, dass die Einnahme von Pantoprazol, Lansoprazol oder Esomeprazol ein signifikant erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse birgt (HR 1,27–13,89). Auf der anderen legen andere Studien nahe, dass dieses erhöhte Risiko durch Störfaktoren verursacht wurde (Goodman, Clare et al. 2012, Sherwood, Melloni et al. 2015). Unsere Arbeit sah keinen Zusammenhang zwischen einer PPI-Einnahme und kardiovaskulären Ereignissen.

Ebenso steht die Einnahme von Calciumkanalblockern im Verdacht, die Wirksamkeit von Clopidogrel zu beeinflussen, wobei die klinische Bedeutung der gemachten Beobachtungen kontrovers diskutiert wird. So fanden *Gremmel et al.* in ihrer Studie an 162 Patienten nach PCI, dass die simultane Therapie mit Calciumkanalblockern ein unabhängiger Prädiktor für eine reduzierte Clopidogrel-Wirkung war, wohingegen *Olesen et al.* feststellten, dass es hier keinen Zusammenhang mit klinischen Ereignissen gab (Gremmel, Steiner et al. 2010, Olesen, Gislason et al. 2011). Letztere Arbeit mit einem sehr großen Patientenkollektiv (56.800 Patienten) wurde durch unsere Auswertung unterstützt, sodass wir die gleichzeitige Einnahme eines Calciumkanalblockers eher als unbedenklich einstufen würden.

4.3 Therapiemanagement

Tertiäres Ziel war es, die Konsequenzen einer ungenügenden Hemmung der Plättchenfunktion durch ASS/Clopidogrel für das Therapiemanagement zu evaluieren.

Die klinische Relevanz einer Thrombozytenfunktionstestung ist noch nicht ubiquitär anerkannt, obwohl zahlreiche Studien zeigen, dass sowohl eine laboranalytische ASS-Resistenz als auch eine laboranalytische Clopidogrel-Resistenz prädikative Faktoren für das Auftreten von kardiovaskulären Ereignissen sein können. So zeigten *Gum et al.* an 326 stabil kardiovaskulär Erkrankten, dass eine ASS-Resistenz mit einem erhöhten Risiko einhergeht, einen Myokardinfarkt oder einen Schlaganfall zu erleiden oder zu versterben

(24 % vs. 10 %; HR 3,12; p=0,03) (Gum, Kottke-Marchant et al. 2003). Zu einem vergleichbaren Ergebnis kamen *Chen et al.* an 468 Patienten. Hier wiesen 15,6 % der ASS-resistenten Patienten vs. 5,3 % der ASS-sensitiven Patienten ($p < 0,001$) ein erhöhtes Risiko für den kardiovaskulären Tod, instabile Angina, Schlaganfall oder TIA (transitorische ischämische Attacke) auf (Chen, Cheng et al. 2007). Gleiches gilt für die klinische Bedeutung einer Clopidogrel-Resistenz. So zeigten beispielsweise *Gurbel et al.*, *Bilden et al.* und *Hochholzer et al.*, dass eine Clopidogrel-Low-Response mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko einhergeht (Gurbel, Bliden et al. 2005, Hochholzer, Trenk et al. 2006, Bliden, DiChiara et al. 2007).

4.3.1 Therapiemodifikation nach erhöhter Plättchenaktivität unter ASS-Einnahme

Fünf Patienten wurden durch die in dieser Arbeit gewählten Cut-off-Werte im PFA-100[®]-Test als ASS-resistent eingestuft. Bei zwei von diesen fünf Patienten wurde die Therapiestrategie modifiziert. Beide Patienten waren zusätzlich Clopidogrel-resistent. Bei einem Patienten trat unter der Einnahme von 150 mg Clopidogrel ein vaskuläres Ereignis in Form eines Schlaganfalls auf. Beim zweiten Patienten wurde eine Modifikation mit 100 mg ASS, 150 mg Clopidogrel und einmal täglich Aggrenox[®] vorgenommen. Der Patient wurde operiert und zeigte ein gutes Ergebnis. Hingegen zeigten Patienten ohne Modifikation der plättchenhemmenden Therapie ein durchweg gutes Ergebnis. Aufgrund des simultanen Auftretens beider Resistenzen kann vermutet werden, dass hier eine *Non-Compliance* vorlag.

Kein Patient hatte ausschließlich eine ASS-Resistenz. Schlussfolgernd kann also angenommen werden, dass bei Patienten, die nur mittels PFA-100[®] als ASS-resistent kategorisiert werden und keine zusätzliche Clopidogrel-Resistenz aufweisen, von einer Therapiemodifikation abgesehen werden kann. Tritt hingegen in beiden Testsystemen eine erhöhte Plättchenaktivität auf, müssen eine *Non-Compliance* thematisiert und gegebenenfalls eine Steigerung der Clopidogrel-Dosis und/oder eine Hinzunahme von Aggrenox[®] erwogen werden. Diese Modifikation wird auch von großen Studien wie *CREDO* oder *CURE* unterstützt (Mehta and Yusuf 2000).

4.3.2 Präventive Modifikationen der Begleitmedikation unter ASS-Einnahme

Das Einzige Medikament, was nicht simultan verwendet werden sollte, ist Ibuprofen, welches im ungünstigsten Fall die Wirkung von ASS komplett aufhebt (Hudson, Baron et al. 2005). Wer zudem bei Hochrisikopatienten (z.B. Schlaganfall in der Anamnese) besondere Vorsicht walten lassen möchte, kann zusätzlich auf PPIs verzichten (Wurtz, Grove et al. 2010).

4.3.3 Therapiemodifikation nach erhöhter Plättchenaktivität unter Clopidogrel-Einnahme

Sieben Patienten wurden durch ärztliche Mitarbeiter der Gerinnungsambulanz als Clopidogrel-resistent eingestuft. Sie zeigten auch mit denen in dieser Arbeit verwendeten Cut-off-Werten sowohl in der LTA als auch im PFA-100[®] eine erhöhte Plättchenaktivität und erhielten daraufhin in der Regel eine doppelte Clopidogrel-Dosis von 150 mg/Tag oder eine Aufsättigungsdosis von 300 mg. Ein Patient konnte durch eine wiederholt gemessene Clopidogrel-Resistenz nicht operiert werden. Von den Übrigen zeigten 66,7 % ein gutes Ergebnis und 33,3 % ein schlechtes in Form einer Stentthrombose, oder eines Schlaganfalls. Dies traf bei beiden Fällen Patienten zu, die eine Verdopplung der Clopidogrel-Dosis erhielten.

Werden hingegen die Patienten betrachtet, die mit den festgelegten Cut-off-Werten (LTA (ADP) ≥ 40 %, PFA-100[®] ADP/PGE₁-Kartusche (< 106 Sekunden) als Clopidogrel-resistent bezeichnet worden wären, fällt auf, dass die alleinig durch die LTA als resistent klassifizierten Patienten nur in 12,5 % der Fälle eine vaskuläre Komplikation erlitten. Im Vergleich hierzu standen die 33,3%, die mittels beider Testungen als resistent eingestuft worden wären. Im weiteren Vergleich hierzu stehen die Patienten mit unauffälliger Testung, die in 5,7 % der Fälle eine vaskuläre Komplikation hatten.

Folglich sollte eine Therapiemodifikation nur dann vorgenommen werden, wenn sowohl die LTA als auch der PFA-100[®] -Test eine ungenügende Plättchenantwort trotz Clopidogrel-Einnahme anzeigen. Im Falle einer Modifikation kann eine *Loading-Dose* von 300 mg, oder gleichwertig eine Verdopplung der Clopidogrel-Dosis auf 150 mg/Tag erfolgen. Dies gilt es jedoch noch an einem größeren Patientenkollektiv zu überprüfen. Die aktuelle Studienlage kommt in diesem Fall auch zu keinem Konsens und schlägt neben der Clopidogrel-Aufsättigung auch einen Wechsel zu Prasugrel vor (Gurbel, Bliden et al.

2005, Bonello, Paganelli et al. 2007, Zhu, Effron et al. 2011, Alexopoulos, Xanthopoulou et al. 2012).

4.3.4 Präventive Modifikationen der Begleitmedikation unter Clopidogrel-Einnahme

Zahlreiche Studien zeigen mögliche Interaktionen von Clopidogrel und anderen Medikamenten wie z.B. ACE-Hemmern, Betablockern oder Statinen auf. Gemäß dieser und vorheriger Arbeiten kann bei Hochrisikopatienten, um ein unerwünschtes Ereignis zu vermeiden, auf die simultane Gabe von Statinen verzichtet werden. Jegliche andere Medikation kann sehr wahrscheinlich unbedenklich verabreicht werden.

5. Zusammenfassung

Das primäre Ziel dieser retrospektiven Arbeit war es, bei Patienten mit geplanter neuroendovaskulärer Intervention den PFA-100[®]-Test (PFA: *Platelet Function Analyzer*) mit der Lichttransmissionsaggregometrie (LTA) hinsichtlich der Identifikation einer ASS- und Clopidogrel-Resistenz zu vergleichen. Das sekundäre Ziel der Arbeit war die Identifikation von demographischen und klinischen Einflussfaktoren, die mit einer ungenügenden Plättchenantwort auf die Einnahme von ASS und Clopidogrel einhergehen. Zudem sollten die Möglichkeiten des Therapiemanagements bei Patienten mit insuffizienter medikamentöser Plättchenhemmung beschrieben werden.

Im Vorfeld einer elektiven zerebrovaskulären Intervention (Stenting oder Coiling eines Aneurysmas /einer ACI-Stenose (Arteria carotis interna)) erhielten die Patienten über 7 Tage eine duale Aggregationshemmung mit Acetylsalicylsäure (ASS) 100 mg/Tag und Clopidogrel 75 mg/Tag. Am Tag vor der Intervention wurde die Wirkung von ASS und Clopidogrel auf die Thrombozytenfunktion mit Hilfe von speziellen Labortests überprüft. Zur Beurteilung der ASS-Wirkung wurden die LTA mit Arachidonsäure und der PFA-100[®]-Test mit der Kollagen/Epinephrin-Kartusche herangezogen. Zur Beurteilung der Clopidogrel-Wirkung dienten die LTA mit Adenosindiphosphat (ADP) und der PFA-100[®]-Test mit der ADP/Prostaglandin E₁ (PGE₁)-Kartusche. Um Risikofaktoren für eine ungenügende ASS-/Clopidogrel-Response zu identifizieren, wurden demographische Daten, Laborparameter, Begleitmedikationen und Grunderkrankungen aus den elektronischen Patientenakten extrahiert und in eine Datenbank übertragen. Alle Patienten wurden im Anschluss an die neuroendovaskuläre Intervention über drei Monate routinemäßig nachbeobachtet. Die Ergebnisse der Labordiagnostik und das Therapiemanagement wurden hinsichtlich des Auftretens vaskulärer Ereignisse bewertet. Die Analyse schloss 58 Patienten (38 Frauen und 20 Männer, mittleres Alter 54 ± 14 Jahre) ein. Es fand sich ein schwacher Zusammenhang zwischen den Testmethoden in Bezug auf eine Clopidogrel-Resistenz ($\kappa=-0,329$). Kein Zusammenhang bestand hingegen zwischen den Testmethoden in Bezug auf eine ASS-Resistenz ($\kappa=0,158$). Eine mittels PFA-100[®]-Test festgestellte ASS-Resistenz war mit einem Schlaganfall in der Vorgeschichte und mit der gleichzeitigen Einnahme von NSAR assoziiert. Eine mittels PFA-100[®]-Test festgestellte Clopidogrel-Resistenz wurde häufiger bei Patienten mit Diabetes mellitus und Einnahme von Statinen beobachtet. Komplikationen (Schlaganfall, Stentthrombose) traten bei sechs Patienten (11 %) auf und waren unabhängig von den

LTA-Ergebnissen. Ein schwacher Zusammenhang ($\kappa=0,24$) zeigte sich zwischen einer ungenügenden Hemmung der Plättchenfunktion im Clopidogrel-PFA-100[®]-Tests mit der ADP/PGE₁-Kartusche und dem Auftreten einer Stentthrombose.

Im Falle einer ASS-*Non-Response* wurde den Patienten zusätzlich ein Kombinationspräparat aus ASS und Dipyridamol (Aggrenox[®]) verordnet. Bei ungenügender Clopidogrel-Wirkung erhielten die Patienten entweder eine einmalige Aufsättigung (*Loading-Dose*) von 300 mg Clopidogrel oder eine erhöhte Tagesdosis von 150 mg Clopidogrel. Beide Strategien zeigten eine suffiziente Wirksamkeit.

Zusammenfassend zeigte sich bei Patienten vor elektiven neuroendovaskulären Interventionen ein schwacher Zusammenhang zwischen den beiden Testsystemen PFA-100[®] und LTA in Bezug auf die Detektion einer Clopidogrel-Resistenz und kein Zusammenhang in Bezug auf die Detektion einer ASS-Resistenz. Aufgrund des vergleichsweise kleinen Patientenkollektivs und der retrospektiven Betrachtung sind größere prospektive Studien erforderlich, um die optimalen Tests zur Überprüfung der ASS- und Clopidogrel-Wirkung bei Patienten mit neuroendovaskulären Eingriffen zu definieren.

6. Summary

The aim of this study was to evaluate the reliability of the light transmittance aggregometry (LTA) in comparison to PFA-100[®] in a group of patients undergoing neuroendovascular interventions such as coiling or stenting. As a secondary aim, we investigated demographic and clinical characteristics which are associated with a high on-treatment platelet reactivity to both aspirin and Clopidogrel. As a tertiary aim, we analyzed the possibilities of therapy modification of those patients with a high on-treatment platelet reactivity.

Patients undergoing neuroendovascular treatments received acetylsalicylic acid (ASA) 100 mg and Clopidogrel 75 mg 7-10 days before intervention. Responsiveness to ASA was assessed by LTA using arachidonic acid and PFA-100[®] using the collagen/epinephrine cartridge. Responsiveness to Clopidogrel was assessed by LTA using adenosine diphosphate (ADP) and PFA-100[®] using the ADP/prostaglandin E1 (PGE1) cartridge. To identify potential risk factors, we collected demographic and laboratory characteristics, co-medication and accompanying illnesses from electronic patient records. Follow-up was three months. Laboratory test results and therapy management were assessed regarding adverse outcomes (death, thromboembolisms or in-stent thrombosis).

58 patients (38 females and 20 males, median age 54 ± 14 years) were analyzed. There was a poor agreement between the tests for Clopidogrel non-responsiveness ($\kappa=-0,329$) and no agreement for ASA non-responsiveness ($\kappa=0,158$). Clopidogrel non-responsiveness by PFA-100[®] was associated with diabetes and concomitant use of statins. Adverse outcome occurred in 11 % of the cases and was independent of LTA results. A poor agreement ($\kappa=0,24$) was shown between a Clopidogrel non-responsiveness by PFA-100[®] and ADP/PGE₁ and in-stent thrombosis.

Patients showing high on-ASA platelet reactivity received a combination product Aggrenox[®] (ASA and dipyridamole). Patients showing high on-Clopidogrel platelet reactivity received a 300 mg loading dose or a doubled 150 mg Clopidogrel. Both strategies were equally suitable.

In summary, there is a poor agreement between PFA-100[®] and LTA in the assessment of Clopidogrel non-responsiveness and no agreement regarding an ASA non-responsiveness in a cohort of patients undergoing neuroendovascular interventions.

A limitation of this study is the small group of patients who were investigated and the retrospective design. Further studies are needed to find an appropriate assessment of ASA and Clopidogrel non-responsiveness.

7. Abkürzungsverzeichnis

ACI - Arteria carotis interna

ARU - ASS Reaction Units = ASS Reaktions Einheiten

ASS - Aspirin®

ASA - acetylsalicylic acid

ATC - Antithrombotic Trialist Collaboration

CK-MB - Creatin-Kinase Isoenzym MB

Compliant - Patient nimmt die ihm verordnete Medikation tatsächlich ein

COX-1 - Cyclooxygenase-1

COX-2 - Cyclooxygenase-2

Cut-off-Wert - Festgelegter Grenzwert

Hyper-Response - Überschießendes Ansprechen der Thrombozyten

KHK - Koronare Herzkrankheit

Kol/Epi - Kollagen/Epinephrin

Loss-of-function-Mutation - Mutation, die zu einem funktionsausfall des Proteins führt

Low-Response - Vermindertes Ansprechen der Thrombozyten auf Aggregationshemmer

LTA - Lichttransmissionsaggregometrie

MI - Myokardinfarkt

Non-Responsiveness - Kein Ansprechen der Thrombozyten auf Aggregationshemmer

NSTEMI - Nicht-ST-Hebungsinfarkt

NSAR - Nichtsteriodale Antirhematika

PAU - Platelet Aggregation Units = Plättchen-Aggregations Einheiten

pAVK - Periphere arterielle Verschlusskrankheit

PCI - Perkutane Koronarintervention

PFA-100® - Platelet Function Analyzer = Test zur Messung der Plättchenfunktion

PGE₁ - Prostaglandin E₁

Point of care test - Patientennaher Test, der kein Labor zur Auswertung benötigt

PRU - P2Y₁₂ Reaction Units = P2Y₁₂ Reaktions Einheiten

PTCA - Perkutane transluminale koronare Angioplastie

PPI - Protonenpumpenhemmer

SNP – Single Nucleotide Polymorphism = Einzelnukleotid-Polymorphismen

TRAP-6 - Thrombin receptor-activating peptid

TIA - Transitorische ischämische Attacke

UTXB₂ - Dehydrothromboxan B₂ im Urin

vWF - Von-Willebrand-Faktor

vWS - Von-Willebrand-Syndrom

8. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Wege der Thromboxan-Produktion und Effekt von ASS - Hankey G.J. and J. W. Eikelboom (2006).....	5
Abbildung 2: PFA-100® Verschlusszeiten und Interpretation - Uniklinikum Ulm (2010).....	14
Abbildung 3: Labormethoden der Plättchenfunktionsanalyse - Ben-Dor (2009).....	15
Abbildung 4: Beziehung zwischen Patientenfrequenz und absoluter Änderung der Aggregation (%) als Antwort auf 20 µmol/l ADP nach 2h (A), 24h (B), 5 Tagen (C), 30 Tagen (D) nach „Stenting“. Die Δ Aggregation (%) ist definiert als „baseline Aggregatio“n (%) minus „posttreatment aggregation“ (%) – Gurbel, P.A., et al. (2003).....	25
Abbildung 5: Die Variabilität der Clopidogrel-Wirkung ist ein pharmakokinetisches Problem, welches primär von aktiven Cytochrom P450-Isoenzymen beeinflusst wird. Die Absorption könnte von einem Polymorphismus im ABCB1-Gen abhängig sein. Die Aktivität der Cytochrom P450-Isoenzyme wird durch Medikamenteninteraktionen, genetische Polymorphismen und Umweltfaktoren (Rauchen) beeinflusst – Bonelle, L., et al. (2010).....	31
Abbildung 6: Verteilung der Ergebnisse aus verschiedenen Plättchenfunktionsanalysen. (A) LTA(AA) (B) LTA(ADP) 5, 10, und 20 µM. (C) Impedanzaggregometrie (D) Verschlusszeit mit PFA-100®. (E) ASS-Response mittels VerifyNow Aspirin® (F) dTxB2 Konzentration im Urin. Nicht-gefärbte Kreise zeigen ASS-sensitive, rote Kreise ASS-resistente Patienten. Horizontal gezeichnete Punkte zeigen Cut-off-Werte der ASS-Resistenz nach aktueller Literatur. Der rote Pfeil zeigt die ASS-Resistenz-Zone – Lordkipanidzé et al. (2007).....	34
Abbildung 7: Korrelationskoeffizienten zwischen verschiedenen Plättchenfunktionstests- Lordkipanidzé et al. (2007).....	35
Abbildung 8: Variabilität der residualen Plättchenaggregation (%) auf 1 mM Arachidonsäure in der LTA...53	
Abbildung 9: Variabilität der Verschlusszeit (Sekunden) mit Kollagen/Epinephrin im PFA-100®-Test54	
Abbildung 10: Variabilität der residualen Plättchenaggregation (%) mit 2 µM ADP in der LTA.....55	
Abbildung 11: Variabilität der Verschlusszeit (Sekunden) mit ADP/PGE ₁ im PFA-100®-Test.....56	
Abbildung 12: LTA mit Arachidonsäure (%) und PFA-100® mit Kollagen/Epinephrin (Sekunden).....57	
Abbildung 13: LTA mit 2µM ADP (%) und PFA-100® mit ADP/PGE ₁ -Kartusche (Sekunden).....57	
Abbildung 14: Klinische Ergebnisse nach erfolgter Intervention59	
Abbildung 15: Klinisches Ergebnis nach auffälliger LTA und erfolgter Intervention60	

Abbildung 16: Klinisches Ergebnis nach auffälliger PFA-100®) und erfolgter Intervention.....61

9. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Resistenz Richtwerte - Werte aus: Ben-Dor (2009); Tsantes (2013)	16
Tabelle 2: Patientencharakteristika	42
Tabelle 3: Resistenz-Häufigkeiten n (%).....	44
Tabelle 4: Demographische und klinische Patientencharakteristika bezogen auf die ASS-Resistenz-Messung mittels PFA-100® (Kollagen/Epinephrin-Kartusche) ; p-Wert mittels Chi-Quadrat oder t-Test.....	46
Tabelle 5: Demographische und klinische Patientencharakteristika bezogen auf die Clopidogrel-Resistenz-Messung mittels PFA-100® (ADP/PGE ₁ -Kartusche); p-Wert mittels Chi-Quadrat oder t-Test.....	49
Tabelle 6: Demographische und klinische Patientencharakteristika bezogen auf die Clopidogrel-Resistenz-Messung mittels LTA (ADP-induzierte Plättchenaggregation); p-Wert mittels Chi-Quadrat oder t-Test.....	51
Tabelle 7: Vergleich hämatologischer Parameter zwischen den Patientengruppen; p-Wert mittels t-Test.....	52
Tabelle 8: Übersicht resistenter Patienten	58
Tabelle 9: Therapieumstellung und Ergebnis nach Resistenz-Feststellung durch ärztliches Personal; ASS R: ASS-Resistenz; CLO R: Clopidogrel-Resistenz; LD: Loading Dose; +: positives Ergebnis.....	62
Tabelle 10 Klinisches Outcome nach Resistenz-Feststellung	67

10. Bibliografie

- Agarwal, S., M. Coakley, K. Reddy, A. Riddell and S. Mallett (2006). "Quantifying the effect of antiplatelet therapy: a comparison of the platelet function analyzer (PFA-100) and modified thromboelastography (mTEG) with light transmission platelet aggregometry." Anesthesiology **105**(4): 676-683.
- Alexopoulos, D., I. Xanthopoulou, V. Gkizas, G. Kassimis, K. C. Theodoropoulos, G. Makris, N. Koutsogiannis, A. Damelou, G. Tsigkas, P. Davlourous and G. Hahalis (2012). "Randomized assessment of ticagrelor versus prasugrel antiplatelet effects in patients with ST-segment-elevation myocardial infarction." Circ Cardiovasc Interv **5**(6): 797-804.
- Amsterdam, E. A., N. K. Wenger, R. G. Brindis, D. E. Casey, Jr., T. G. Ganiats, D. R. Holmes, Jr., A. S. Jaffe, H. Jneid, R. F. Kelly, M. C. Kontos, G. N. Levine, P. R. Liebson, D. Mukherjee, E. D. Peterson, M. S. Sabatine, R. W. Smalling and S. J. Zieman (2014). "2014 AHA/ACC guideline for the management of patients with non-ST-elevation acute coronary syndromes: executive summary: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines." Circulation **130**(25): 2354-2394.
- Angiolillo, D. J., E. Bernardo, M. Zanoni, D. Vivas, P. Capranzano, G. Malerba, D. Capodanno, P. Prandini, A. Pasquali, E. Trabetti, M. Sabate, P. Jimenez-Quevedo, J. L. Ferreiro, M. Ueno, T. A. Bass, P. F. Pignatti, A. Fernandez-Ortiz and C. Macaya (2011). "Impact of insulin receptor substrate-1 genotypes on platelet reactivity and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease." J Am Coll Cardiol **58**(1): 30-39.
- Angiolillo, D. J., N. Curzen, P. Gurbel, P. Vaitkus, F. Lipkin, W. Li, J. A. Jakubowski, M. Zettler, M. B. Effron and D. Trenk (2014). "Pharmacodynamic evaluation of switching from ticagrelor to prasugrel in patients with stable coronary artery disease: Results of the SWAP-2 Study (Switching Anti Platelet-2)." J Am Coll Cardiol **63**(15): 1500-1509.
- Aradi, D., R. F. Storey, A. Komocsi, D. Trenk, D. Gulba, R. G. Kiss, S. Husted, L. Bonello, D. Sibbing, J. P. Collet and K. Huber (2014). "Expert position paper on the role of platelet function testing in patients undergoing percutaneous coronary intervention." Eur Heart J **35**(4): 209-215.
- Arazi, H. C., D. G. Doiny, R. S. Torcivia, H. Grancelli, S. V. Waldman, C. Nojek, M. C. Fornari and J. J. Badimon (2010). "Impaired anti-platelet effect of aspirin, inflammation and platelet turnover in cardiac surgery." Interact Cardiovasc Thorac Surg **10**(6): 863-867.

Ben-Dor, I., N. S. Kleiman and E. Lev (2009). "Assessment, mechanisms, and clinical implication of variability in platelet response to aspirin and clopidogrel therapy." Am J Cardiol **104**(2): 227-233.

Bhatt, D. L., B. L. Cryer, C. F. Contant, M. Cohen, A. Lanas, T. J. Schnitzer, T. L. Shook, P. Lapuerta, M. A. Goldsmith, L. Laine, B. M. Scirica, S. A. Murphy and C. P. Cannon (2010). "Clopidogrel with or without omeprazole in coronary artery disease." N Engl J Med **363**(20): 1909-1917.

Bhatt, D. L., K. A. Fox, W. Hacke, P. B. Berger, H. R. Black, W. E. Boden, P. Cacoub, E. A. Cohen, M. A. Creager, J. D. Easton, M. D. Flather, S. M. Haffner, C. W. Hamm, G. J. Hankey, S. C. Johnston, K. H. Mak, J. L. Mas, G. Montalescot, T. A. Pearson, P. G. Steg, S. R. Steinhubl, M. A. Weber, D. M. Brennan, L. Fabry-Ribaud, J. Booth and E. J. Topol (2006). "Clopidogrel and aspirin versus aspirin alone for the prevention of atherothrombotic events." N Engl J Med **354**(16): 1706-1717.

Bliden, K. P., J. DiChiara, U. S. Tantry, A. K. Bassi, S. K. Chaganti and P. A. Gurbel (2007). "Increased risk in patients with high platelet aggregation receiving chronic clopidogrel therapy undergoing percutaneous coronary intervention: is the current antiplatelet therapy adequate?" J Am Coll Cardiol **49**(6): 657-666.

Bonello, L., L. Camoin-Jau, S. Arques, C. Boyer, D. Panagides, O. Wittenberg, M. C. Simeoni, P. Barragan, F. Dignat-George and F. Paganelli (2008). "Adjusted clopidogrel loading doses according to vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation index decrease rate of major adverse cardiovascular events in patients with clopidogrel resistance: a multicenter randomized prospective study." J Am Coll Cardiol **51**(14): 1404-1411.

Bonello, L., F. Paganelli, M. Arpin-Bornet, P. Auquier, J. Sampol, F. Dignat-George, P. Barragan and L. Camoin-Jau (2007). "Vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation analysis prior to percutaneous coronary intervention for exclusion of postprocedural major adverse cardiovascular events." J Thromb Haemost **5**(8): 1630-1636.

Bonello, L., U. S. Tantry, R. Marcucci, R. Blindt, D. J. Angiolillo, R. Becker, D. L. Bhatt, M. Cattaneo, J. P. Collet, T. Cuisset, C. Gachet, G. Montalescot, L. K. Jennings, D. Kereiakes, D. Sibbing, D. Trenk, J. W. Van Werkum, F. Paganelli, M. J. Price, R. Waksman and P. A. Gurbel (2010). "Consensus and future directions on the definition of high on-treatment platelet reactivity to adenosine diphosphate." J Am Coll Cardiol **56**(12): 919-933.

Breet, N. J., J. W. van Werkum, H. J. Bouman, J. C. Kelder, A. M. Harmsze, C. M. Hackeng and J. M. ten Berg (2011). "High on-treatment platelet reactivity to both aspirin and clopidogrel is associated with the highest risk of adverse events following percutaneous coronary intervention." Heart **97**(12): 983-990.

Buonamici, P., R. Marcucci, A. Migliorini, G. F. Gensini, A. Santini, R. Panizza, G. Moschi, A. M. Gori, R. Abbate and D. Antoniucci (2007). "Impact of platelet reactivity after clopidogrel administration on drug-eluting stent thrombosis." J Am Coll Cardiol **49**(24): 2312-2317.

Burch, J. W., N. Stanford and P. W. Majerus (1978). "Inhibition of platelet prostaglandin synthetase by oral aspirin." J Clin Invest **61**(2): 314-319.

Campo, G., L. Fileti, M. Valgimigli, J. Marchesini, A. Scalone and R. Ferrari (2010). "Boosting platelet inhibition in poor responder to aspirin and clopidogrel undergoing percutaneous coronary intervention: role of tirofiban." J Blood Med **1**: 61-69.

Cardinal, D. C. and R. J. Flower (1980). "The electronic aggregometer: a novel device for assessing platelet behavior in blood." J Pharmacol Methods **3**(2): 135-158.

Catella-Lawson, F., M. P. Reilly, S. C. Kapoor, A. J. Cucchiara, S. DeMarco, B. Tournier, S. N. Vyas and G. A. FitzGerald (2001). "Cyclooxygenase inhibitors and the antiplatelet effects of aspirin." N Engl J Med **345**(25): 1809-1817.

Cattaneo, M. (2007). "Laboratory detection of 'aspirin resistance': what test should we use (if any)?" Eur Heart J **28**(14): 1673-1675.

Charlot, M., E. L. Grove, P. R. Hansen, J. B. Olesen, O. Ahlehoff, C. Selmer, J. Lindhardsen, J. K. Madsen, L. Kober, C. Torp-Pedersen and G. H. Gislason (2011). "Proton pump inhibitor use and risk of adverse cardiovascular events in aspirin treated patients with first time myocardial infarction: nationwide propensity score matched study." Bmj **342**: d2690.

Chen, W. H., X. Cheng, P. Y. Lee, W. Ng, J. Y. Kwok, H. F. Tse and C. P. Lau (2007). "Aspirin resistance and adverse clinical events in patients with coronary artery disease." Am J Med **120**(7): 631-635.

Chen, W. H., P. Y. Lee, W. Ng, H. F. Tse and C. P. Lau (2004). "Aspirin resistance is associated with a high incidence of myonecrosis after non-urgent percutaneous coronary intervention despite clopidogrel pretreatment." J Am Coll Cardiol **43**(6): 1122-1126.

Collaboration, A. T. (2002). "Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients." Bmj **324**(7329): 71-86.

Collet, J. P., T. Cuisset, G. Range, G. Cayla, S. Elhadad, C. Pouillot, P. Henry, P. Motreff, D. Carrie, Z. Boueri, L. Belle, E. Van Belle, H. Rousseau, P. Aubry, J. Monsegu, P. Sabouret, S. A. O'Connor, J. Abtan, M. Kerneis, C. Saint-Etienne, O. Barthelemy, F. Beygui, J. Silvain, E. Vicaut and G. Montalescot (2012). "Bedside monitoring to adjust antiplatelet therapy for coronary stenting." N Engl J Med **367**(22): 2100-2109.

Committee, C. S. (1996). "A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). CAPRIE Steering Committee." Lancet **348**(9038): 1329-1339.

Cox, D., A. O. Maree, M. Dooley, R. Conroy, M. F. Byrne and D. J. Fitzgerald (2006). "Effect of enteric coating on antiplatelet activity of low-dose aspirin in healthy volunteers." Stroke **37**(8): 2153-2158.

Cuisset, T., C. Frere, J. Quilici, F. Barbou, P. E. Morange, T. Hovasse, J. L. Bonnet and M. C. Alessi (2006). "High post-treatment platelet reactivity identified low-responders to dual antiplatelet therapy at increased risk of recurrent cardiovascular events after stenting for acute coronary syndrome." J Thromb Haemost **4**(3): 542-549.

Cuisset, T., C. Frere, J. Quilici, B. Gaborit, L. Bali, R. Poyet, D. Faille, P. E. Morange, M. C. Alessi and J. L. Bonnet (2009). "Aspirin noncompliance is the major cause of "aspirin resistance" in patients undergoing coronary stenting." Am Heart J **157**(5): 889-893.

Diener, H. C., J. Bogousslavsky, L. M. Brass, C. Cimminiello, L. Csiba, M. Kaste, D. Leys, J. Matias-Guiu and H. J. Rupprecht (2004). "Aspirin and clopidogrel compared with clopidogrel alone after recent ischaemic stroke or transient ischaemic attack in high-risk patients (MATCH): randomised, double-blind, placebo-controlled trial." Lancet **364**(9431): 331-337.

Diener, H. C., L. Cunha, C. Forbes, J. Sivenius, P. Smets and A. Lowenthal (1996). "European Stroke Prevention Study. 2. Dipyridamole and acetylsalicylic acid in the secondary prevention of stroke." J Neurol Sci **143**(1-2): 1-13.

Douketis, J. D., P. B. Berger, A. S. Dunn, A. K. Jaffer, A. C. Spyropoulos, R. C. Becker and J. Ansell (2008). "The perioperative management of antithrombotic therapy: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition)." Chest **133**(6 Suppl): 299s-339s.

Edwards, A., J. A. Jakubowski, A. R. Rechner, A. Sugidachi and P. Harrison (2012). "Evaluation of the INNOVANCE PFA P2Y test cartridge: sensitivity to P2Y(12) blockade and influence of anticoagulant." Platelets **23**(2): 106-115.

Eikelboom, J. W., G. J. Hankey, J. Thom, D. L. Bhatt, P. G. Steg, G. Montalescot, S. C. Johnston, S. R. Steinhubl, K. H. Mak, J. D. Easton, C. Hamm, T. Hu, K. A. Fox and E. J. Topol (2008). "Incomplete inhibition of thromboxane biosynthesis by acetylsalicylic acid: determinants and effect on cardiovascular risk." Circulation **118**(17): 1705-1712.

Eikelboom, J. W., J. Hirsh, J. I. Weitz, M. Johnston, Q. Yi and S. Yusuf (2002). "Aspirin-resistant thromboxane biosynthesis and the risk of myocardial infarction, stroke, or cardiovascular death in patients at high risk for cardiovascular events." Circulation **105**(14): 1650-1655.

Erlinge, D., C. Varenhorst, O. O. Braun, S. James, K. J. Winters, J. A. Jakubowski, J. T. Brandt, A. Sugidachi, A. Siegbahn and L. Wallentin (2008). "Patients with poor responsiveness to thienopyridine treatment or with diabetes have lower levels of circulating active metabolite, but their platelets respond normally to active metabolite added ex vivo." J Am Coll Cardiol **52**(24): 1968-1977.

Faraday, N., L. R. Yanek, R. Mathias, J. E. Herrera-Galeano, D. Vaidya, T. F. Moy, M. D. Fallin, A. F. Wilson, P. F. Bray, L. C. Becker and D. M. Becker (2007). "Heritability of platelet responsiveness to aspirin in activation pathways directly and indirectly related to cyclooxygenase-1." Circulation **115**(19): 2490-2496.

Farrell, B., J. Godwin, S. Richards and C. Warlow (1991). "The United Kingdom transient ischaemic attack (UK-TIA) aspirin trial: final results." J Neurol Neurosurg Psychiatry **54**(12): 1044-1054.

Fitzgerald, D. J. and A. Maree (2007). "Aspirin and clopidogrel resistance." Hematology Am Soc Hematol Educ Program: 114-120.

Fitzgerald, R. and M. Pirmohamed (2011). "Aspirin resistance: effect of clinical, biochemical and genetic factors." Pharmacol Ther **130**(2): 213-225.

Fontana, P., P. Gaussem, M. Aiach, J. N. Fiessinger, J. Emmerich and J. L. Reny (2003). "P2Y12 H2 haplotype is associated with peripheral arterial disease: a case-control study." Circulation **108**(24): 2971-2973.

Frelinger, A. L., Y. Li, M. D. Linden, I. Tarnow, M. R. Barnard, M. L. Fox and A. D. Michelson (2008). "Aspirin 'resistance': role of pre-existent platelet reactivity and correlation between tests." J Thromb Haemost **6**(12): 2035-2044.

Gagne, J. J., K. Bykov, N. K. Choudhry, T. J. Toomey, J. G. Connolly and J. Avorn (2013). "Effect of smoking on comparative efficacy of antiplatelet agents: systematic review, meta-analysis, and indirect comparison." Bmj **347**: f5307.

Gajos, G., P. Rostoff, A. Undas and W. Piwowarska (2010). "Effects of polyunsaturated omega-3 fatty acids on responsiveness to dual antiplatelet therapy in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the OMEGA-PCI (OMEGA-3 fatty acids after pci to modify responsiveness to dual antiplatelet therapy) study." J Am Coll Cardiol **55**(16): 1671-1678.

Gluckman, T. J., R. C. McLean, S. P. Schulman, T. S. Kickler, E. P. Shapiro, J. V. Conte, K. W. McNicholas, J. B. Segal and J. J. Rade (2011). "Effects of aspirin responsiveness and platelet reactivity on early vein graft thrombosis after coronary artery bypass graft surgery." J Am Coll Cardiol **57**(9): 1069-1077.

Golanski, J., J. Pluta, J. Baraniak and C. Watala (2004). "Limited usefulness of the PFA-100 for the monitoring of ADP receptor antagonists--in vitro experience." Clin Chem Lab Med **42**(1): 25-29.

Goodman, S. G., R. Clare, K. S. Pieper, J. C. Nicolau, R. F. Storey, W. J. Cantor, K. W. Mahaffey, D. J. Angiolillo, S. Husted, C. P. Cannon, S. K. James, J. Kilhamn, P. G. Steg, R. A. Harrington and L. Wallentin (2012). "Association of proton pump inhibitor use on cardiovascular outcomes with clopidogrel and ticagrelor: insights from the platelet inhibition and patient outcomes trial." Circulation **125**(8): 978-986.

Gori, A. M., R. Marcucci, A. Migliorini, R. Valenti, G. Moschi, R. Paniccia, P. Buonamici, G. F. Gensini, R. Vergara, R. Abbate and D. Antoniucci (2008). "Incidence and clinical impact of dual nonresponsiveness to aspirin and clopidogrel in patients with drug-eluting stents." J Am Coll Cardiol **52**(9): 734-739.

Gorlinger, K., L. Shore-Lesserson, D. Dirkmann, A. A. Hanke, N. Rahe-Meyer and K. A. Tanaka (2013). "Management of hemorrhage in cardiothoracic surgery." J Cardiothorac Vasc Anesth **27**(4 Suppl): S20-34.

Gremmel, T., S. Steiner, D. Seidinger, R. Koppensteiner, S. Panzer and C. W. Kopp (2010). "Calcium-channel blockers decrease clopidogrel-mediated platelet inhibition." Heart **96**(3): 186-189.

Grosser, N., A. Abate, S. Oberle, H. J. Vreman, P. A. Dennerly, J. C. Becker, T. Pohle, D. S. Seidman and H. Schroder (2003). "Heme oxygenase-1 induction may explain the antioxidant profile of aspirin." Biochem Biophys Res Commun **308**(4): 956-960.

Grosser, T., S. Fries, J. A. Lawson, S. C. Kapoor, G. R. Grant and G. A. Fitzgerald (2013). "Response to letters regarding article, "Drug resistance and pseudoresistance: an unintended consequence of enteric coating aspirin"." Circulation **128**(12): e191.

Group, T. D. T. T. S. (1991). "A comparison of two doses of aspirin (30 mg vs. 283 mg a day) in patients after a transient ischemic attack or minor ischemic stroke. The Dutch TIA Trial Study Group." N Engl J Med **325**(18): 1261-1266.

Grove, E. L., A. M. Hvas and S. D. Kristensen (2009). "Immature platelets in patients with acute coronary syndromes." Thromb Haemost **101**(1): 151-156.

Gum, P. A., K. Kottke-Marchant, E. D. Poggio, H. Gurm, P. A. Welsh, L. Brooks, S. K. Sapp and E. J. Topol (2001). "Profile and prevalence of aspirin resistance in patients with cardiovascular disease." Am J Cardiol **88**(3): 230-235.

Gum, P. A., K. Kottke-Marchant, P. A. Welsh, J. White and E. J. Topol (2003). "A prospective, blinded determination of the natural history of aspirin resistance among stable patients with cardiovascular disease." Journal of the American College of Cardiology **41**(6): 961-965.

Gurbel, P. A., M. J. Antonino, K. P. Bliden, J. Dichiara, T. A. Suarez, A. Singla and U. S. Tantry (2008). "Platelet reactivity to adenosine diphosphate and long-term ischemic event occurrence following percutaneous coronary intervention: a potential antiplatelet therapeutic target." Platelets **19**(8): 595-604.

Gurbel, P. A., K. P. Bliden, K. Guyer, P. W. Cho, K. A. Zaman, R. P. Kreutz, A. K. Bassi and U. S. Tantry (2005). "Platelet reactivity in patients and recurrent events post-stenting: results of the PREPARE POST-STENTING Study." J Am Coll Cardiol **46**(10): 1820-1826.

Gurbel, P. A., K. P. Bliden, K. M. Hayes, J. A. Yoho, W. R. Herzog and U. S. Tantry (2005). "The relation of dosing to clopidogrel responsiveness and the incidence of high post-treatment platelet aggregation in patients undergoing coronary stenting." J Am Coll Cardiol **45**(9): 1392-1396.

Gurbel, P. A., K. P. Bliden, B. L. Hiatt and C. M. O'Connor (2003). "Clopidogrel for coronary stenting: response variability, drug resistance, and the effect of pretreatment platelet reactivity." Circulation **107**(23): 2908-2913.

Gurbel, P. A. and U. S. Tantry (2007). "Clopidogrel resistance?" Thrombosis Research **120**(3): 311-321.

Hagihara, K., M. Kazui, A. Kurihara, M. Yoshiike, K. Honda, O. Okazaki, N. A. Farid and T. Ikeda (2009). "A possible mechanism for the differences in efficiency and variability of active metabolite formation from thienopyridine antiplatelet agents, prasugrel and clopidogrel." Drug Metab Dispos **37**(11): 2145-2152.

Halushka, M. K. and P. V. Halushka (2002). "Why are some individuals resistant to the cardioprotective effects of aspirin? Could it be thromboxane A2?" Circulation **105**(14): 1620-1622.

Hankey, G. J. and J. W. Eikelboom (2006). "Aspirin resistance." Lancet **367**(9510): 606-617.

Harrison, P., H. Segal, K. Blasbery, C. Furtado, L. Silver and P. M. Rothwell (2005). "Screening for aspirin responsiveness after transient ischemic attack and stroke: comparison of 2 point-of-care platelet function tests with optical aggregometry." Stroke **36**(5): 1001-1005.

Hennekens, C. H., W. R. Schneider, P. R. Hebert, U. S. Tantry and P. A. Gurbel (2010). "Hypothesis formulation from subgroup analyses: nonadherence or nonsteroidal anti-inflammatory drug use explains the lack of clinical benefit of aspirin on first myocardial infarction attributed to "aspirin resistance"." Am Heart J **159**(5): 744-748.

Henry, P., A. Vermillet, B. Boval, C. Guyetand, T. Petroni, J. G. Dillinger, G. Sideris, C. Bal dit Sollier and L. Drouet (2011). "24-hour time-dependent aspirin efficacy in patients with stable coronary artery disease." Thromb Haemost **105**(2): 336-344.

Hochholzer, W., D. Trenk, H. P. Bestehorn, B. Fischer, C. M. Valina, M. Ferenc, M. Gick, A. Caputo, H. J. Buttner and F. J. Neumann (2006). "Impact of the degree of periprocedural platelet inhibition after loading with clopidogrel on early clinical outcome of elective coronary stent placement." J Am Coll Cardiol **48**(9): 1742-1750.

Homoncik, M., B. Jilma, N. Hergovich, P. Stohlawetz, S. Panzer and W. Speiser (2000). "Monitoring of aspirin (ASA) pharmacodynamics with the platelet function analyzer PFA-100." Thromb Haemost **83**(2): 316-321.

Hudson, M., M. Baron, E. Rahme and L. Pilote (2005). "Ibuprofen may abrogate the benefits of aspirin when used for secondary prevention of myocardial infarction." J Rheumatol **32**(8): 1589-1593.

Hulot, J. S., A. Bura, E. Villard, M. Azizi, V. Remones, C. Goyenvalle, M. Aiach, P. Lechat and P. Gaussem (2006). "Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism is a major determinant of clopidogrel responsiveness in healthy subjects." Blood **108**(7): 2244-2247.

Jang, J., J. Lim, K. Chang, Y. Kim, M. Kim, H. I. Park, J. Kim and S. Shin (2012). "A comparison of INNOVANCE(R) PFA P2Y and VerifyNow P2Y12 assay for the assessment of clopidogrel resistance in patients undergoing percutaneous coronary intervention." J Clin Lab Anal **26**(4): 262-266.

Jeong, Y. H., K. P. Bliden, M. J. Antonino, K. S. Park, U. S. Tantry and P. A. Gurbel (2012). "Usefulness of the VerifyNow P2Y12 assay to evaluate the antiplatelet effects of ticagrelor and clopidogrel therapies." Am Heart J **164**(1): 35-42.

Kovacs, E. G., E. Katona, Z. Bereczky, N. Homorodi, L. Balogh, E. Toth, H. Peterfy, R. G. Kiss, I. Edes and L. Muszbek (2014). "Evaluation of laboratory methods routinely used to detect the effect of aspirin against new reference methods." Thromb Res **133**(5): 811-816.

Krasopoulos, G., S. J. Brister, W. S. Beattie and M. R. Buchanan (2008). "Aspirin "resistance" and risk of cardiovascular morbidity: systematic review and meta-analysis." Bmj **336**(7637): 195-198.

L'Allier, P. L., G. Ducrocq, N. Pranno, S. Noble, R. Ibrahim, J. C. Gregoire, F. Azzari, A. Nozza, C. Berry, S. Doucet, B. Labarthe, P. Theroux and J. C. Tardif (2008). "Clopidogrel 600-mg double loading dose achieves stronger platelet inhibition than conventional regimens: results from the PREPAIR randomized study." J Am Coll Cardiol **51**(11): 1066-1072.

Lansberg, M. G., M. J. O'Donnell, P. Khatri, E. S. Lang, M. N. Nguyen-Huynh, N. E. Schwartz, F. A. Sonnenberg, S. Schulman, P. O. Vandvik, F. A. Spencer, P. Alonso-Coello, G. H. Guyatt and E. A. Akl (2012). "Antithrombotic and thrombolytic therapy for ischemic stroke: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines." Chest **141**(2 Suppl): e601S-636S.

Largieadèr, S., Wicki (2013). "Checkliste Arzneimittel A-Z." 2013 6. Auflage Thieme Verlagsgruppe, Stuttgart, New York, Delhi, Rio.

Larson, M. K., J. H. Ashmore, K. A. Harris, J. L. Vogelaar, J. V. Pottala, M. Sprehe and W. S. Harris (2008). "Effects of omega-3 acid ethyl esters and aspirin, alone and in combination, on platelet function in healthy subjects." Thromb Haemost **100**(4): 634-641.

Lau, W. C., P. A. Gurbel, P. B. Watkins, C. J. Neer, A. S. Hopp, D. G. Carville, K. E. Guyer, A. R. Tait and E. R. Bates (2004). "Contribution of hepatic cytochrome P450 3A4 metabolic activity to the phenomenon of clopidogrel resistance." Circulation **109**(2): 166-171.

Lau, W. C., T. D. Welch, T. Shields, M. Rubenfire, U. S. Tantry and P. A. Gurbel (2011). "The effect of St John's Wort on the pharmacodynamic response of clopidogrel in hyporesponsive volunteers and patients: increased platelet inhibition by enhancement of CYP3A4 metabolic activity." J Cardiovasc Pharmacol **57**(1): 86-93.

Le Quellec, S., J. C. Bordet, C. Negrier and Y. Dargaud (2016). "Comparison of current platelet functional tests for the assessment of aspirin and clopidogrel response. A review of the literature." Thromb Haemost **116**(4).

Lev, E. I., R. T. Patel, K. J. Maresh, S. Guthikonda, J. Granada, T. DeLao, P. F. Bray and N. S. Kleiman (2006). "Aspirin and clopidogrel drug response in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the role of dual drug resistance." J Am Coll Cardiol **47**(1): 27-33.

Lev, E. I., A. Solodky, N. Harel, A. Mager, D. Brosh, A. Assali, M. Roller, A. Battler, N. S. Kleiman and R. Kornowski (2010). "Treatment of aspirin-resistant patients with omega-3 fatty acids versus aspirin dose escalation." J Am Coll Cardiol **55**(2): 114-121.

Li, X. L., J. Cao, L. Fan, Q. Wang, L. Ye, C. P. Cui, Y. Z. Wang, L. Liu, B. Li, R. J. Wu, F. C. Zhou and J. H. Zhang (2013). "Genetic polymorphisms of HO-1 and COX-1 are associated with aspirin resistance defined by light transmittance aggregation in Chinese Han patients." Clin Appl Thromb Hemost **19**(5): 513-521.

Linnemann, B., J. Schwonberg, A. R. Rechner, H. Mani and E. Lindhoff-Last (2010). "Assessment of clopidogrel non-response by the PFA-100 system using the new test cartridge INNOVANCE PFA P2Y." Ann Hematol **89**(6): 597-605.

Lordkipanidze, M., C. Pharand, E. Schampaert, J. Turgeon, D. A. Palisaitis and J. G. Diodati (2007). "A comparison of six major platelet function tests to determine the prevalence of aspirin resistance in patients with stable coronary artery disease." Eur Heart J **28**(14): 1702-1708.

M. Haberkorn, I. f. K. C. A. G. (2013). "Arbeitsanweisung: AM-GL-149 D und AML-GL-146 E - S O P ".

Madsen, E. H., J. Saw, S. R. Kristensen, E. B. Schmidt, C. Pittendreigh and E. Maurer-Spurej (2010). "Long-term aspirin and clopidogrel response evaluated by light transmission aggregometry, VerifyNow, and thrombelastography in patients undergoing percutaneous coronary intervention." Clin Chem **56**(5): 839-847.

Malek, L. A., M. Klopotoski, M. Spiewak, K. Wozniak, J. Was, J. Misko, W. Ruzyllo and A. Witkowski (2014). "Platelet Reactivity and Intramyocardial Hemorrhage in Patients With ST-Segment Elevation Myocardial Infarction." Clin Appl Thromb Hemost **20**(5): 553-558.

Mani, H., B. Linnemann, B. Luxembourg, K. Kirchmayr and E. Lindhoff-Last (2006). "Response to aspirin and clopidogrel monitored with different platelet function methods." Platelets **17**(5): 303-310.

Marcucci, R., A. M. Gori, R. Paniccia, B. Giusti, S. Valente, C. Giglioli, P. Buonamici, D. Antoniucci, R. Abbate and G. F. Gensini (2009). "Cardiovascular death and nonfatal myocardial infarction in acute coronary syndrome patients receiving coronary stenting are predicted by residual platelet reactivity to ADP detected by a point-of-care assay: a 12-month follow-up." Circulation **119**(2): 237-242.

Maree, A. O., R. J. Curtin, A. Chubb, C. Dolan, D. Cox, J. O'Brien, P. Crean, D. C. Shields and D. J. Fitzgerald (2005). "Cyclooxygenase-1 haplotype modulates platelet response to aspirin." J Thromb Haemost **3**(10): 2340-2345.

Masuhr, F. and M. A. Busch (2012). "[Primary and secondary prevention of stroke]." Internist (Berl) **53**(12): 1496-1504.

Matetzky, S., B. Shenkman, V. Guetta, M. Shechter, R. Beinart, I. Goldenberg, I. Novikov, H. Pres, N. Savion, D. Varon and H. Hod (2004). "Clopidogrel resistance is associated with increased risk of recurrent atherothrombotic events in patients with acute myocardial infarction." Circulation **109**(25): 3171-3175.

McGlasson, D. L. and G. A. Fritsma (2009). "Whole blood platelet aggregometry and platelet function testing." Semin Thromb Hemost **35**(2): 168-180.

McQuaid, K. R. and L. Laine (2006). "Systematic review and meta-analysis of adverse events of low-dose aspirin and clopidogrel in randomized controlled trials." Am J Med **119**(8): 624-638.

Mehta, S. R., J. P. Bassand, S. Chrolavicius, R. Diaz, J. W. Eikelboom, K. A. Fox, C. B. Granger, S. Jolly, C. D. Joyner, H. J. Rupprecht, P. Widimsky, R. Afzal, J. Pogue and S. Yusuf (2010). "Dose comparisons of clopidogrel and aspirin in acute coronary syndromes." N Engl J Med **363**(10): 930-942.

Mehta, S. R. and S. Yusuf (2000). "The Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent Events (CURE) trial programme; rationale, design and baseline characteristics including a meta-analysis of the effects of thienopyridines in vascular disease." Eur Heart J **21**(24): 2033-2041.

Mehta, S. R., S. Yusuf, R. J. Peters, M. E. Bertrand, B. S. Lewis, M. K. Natarajan, K. Malmberg, H. Rupprecht, F. Zhao, S. Chrolavicius, I. Copland and K. A. Fox (2001). "Effects of pretreatment with clopidogrel and aspirin followed by long-term therapy in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the PCI-CURE study." Lancet **358**(9281): 527-533.

Michelson, A. D. (2004). "Platelet function testing in cardiovascular diseases." Circulation **110**(19): e489-493.

Michelson, A. D., M. Cattaneo, J. W. Eikelboom, P. Gurbel, K. Kottke-Marchant, T. J. Kunicki, F. M. Pulcinelli, C. Cerletti and A. K. Rao (2005). "Aspirin resistance: position paper of the Working Group on Aspirin Resistance." J Thromb Haemost **3**(6): 1309-1311.

Michelson, A. D., M. I. Furman, P. Goldschmidt-Clermont, M. A. Mascelli, C. Hendrix, L. Coleman, J. Hamlington, M. R. Barnard, T. Kickler, D. J. Christie, S. Kundu and P. F. Bray (2000). "Platelet GP IIIa Pl(A) polymorphisms display different sensitivities to agonists." Circulation **101**(9): 1013-1018.

Muir, A. R., M. F. McMullin, C. Patterson and P. P. McKeown (2009). "Assessment of aspirin resistance varies on a temporal basis in patients with ischaemic heart disease." Heart **95**(15): 1225-1229.

Nguyen, T. A., J. G. Diodati and C. Pharand (2005). "Resistance to clopidogrel: a review of the evidence." J Am Coll Cardiol **45**(8): 1157-1164.

Nicholson, N. S., S. G. Panzer-Knodle, N. F. Haas, B. B. Taite, J. A. Szalony, J. D. Page, L. P. Feigen, D. M. Lansky and A. K. Salyers (1998). "Assessment of platelet function assays." Am Heart J **135**(5 Pt 2 Su): S170-178.

Olesen, J. B., G. H. Gislason, M. G. Charlot, E. L. Fosbol, C. Andersson, P. Weeke, O. Ahlehoff, C. Selmer, C. Torp-Pedersen and P. R. Hansen (2011). "Calcium-channel blockers do not alter the clinical efficacy of clopidogrel after myocardial infarction: a nationwide cohort study." J Am Coll Cardiol **57**(4): 409-417.

Paniccia, R., E. Antonucci, A. M. Gori, R. Marcucci, S. Poli, E. Romano, S. Valente, C. Giglioli, S. Fedi, G. F. Gensini, R. Abbate and D. Prisco (2007). "Comparison of different methods to evaluate the effect of aspirin on platelet function in high-risk patients with ischemic heart disease receiving dual antiplatelet treatment." Am J Clin Pathol **128**(1): 143-149.

Paniccia, R., R. Priora, A. A. Liotta and R. Abbate (2015). "Platelet function tests: a comparative review." Vasc Health Risk Manag **11**: 133-148.

Patrono, C., L. A. Garcia Rodriguez, R. Landolfi and C. Baigent (2005). "Low-dose aspirin for the prevention of atherothrombosis." N Engl J Med **353**(22): 2373-2383.

Patti, G., A. Nusca, F. Mangiacapra, L. Gatto, A. D'Ambrosio and G. Di Sciascio (2008). "Point-of-care measurement of clopidogrel responsiveness predicts clinical outcome in patients undergoing percutaneous coronary intervention results of the ARMYDA-PRO (Antiplatelet therapy for Reduction of MYocardial Damage during Angioplasty-Platelet Reactivity Predicts Outcome) study." J Am Coll Cardiol **52**(14): 1128-1133.

Peng, L., L. Mundada, J. M. Stomel, J. J. Liu, J. Sun, S. F. Yet and W. P. Fay (2004). "Induction of heme oxygenase-1 expression inhibits platelet-dependent thrombosis." Antioxid Redox Signal **6**(4): 729-735.

Postula, M., A. Kaplon-Cieslicka, M. Rosiak, A. Kondracka, A. Serafin, K. J. Filipiak, A. Czlonkowski, G. Opolski and P. K. Janicki (2011). "Genetic determinants of platelet reactivity during acetylsalicylic acid therapy in diabetic patients: evaluation of 27 polymorphisms within candidate genes." J Thromb Haemost **9**(11): 2291-2301.

Price, M. J., P. B. Berger, P. S. Teirstein, J. F. Tanguay, D. J. Angiolillo, D. Spriggs, S. Puri, M. Robbins, K. N. Garratt, O. F. Bertrand, M. E. Stillabower, J. R. Aragon, D. E. Kandzari, C. T. Stinis, M. S. Lee, S. V. Manoukian, C. P. Cannon, N. J. Schork and E. J. Topol (2011). "Standard- vs high-dose clopidogrel based on platelet function testing after percutaneous coronary intervention: the GRAVITAS randomized trial." Jama **305**(11): 1097-1105.

Price, M. J., S. Endemann, R. R. Gollapudi, R. Valencia, C. T. Stinis, J. P. Levisay, A. Ernst, N. S. Sawhney, R. A. Schatz and P. S. Teirstein (2008). "Prognostic significance of post-clopidogrel platelet reactivity assessed by a point-of-care assay on thrombotic events after drug-eluting stent implantation." Eur Heart J **29**(8): 992-1000.

Rahe-Meyer, N., M. Winterhalter, A. Boden, C. Froemke, S. Piepenbrock, A. Calatzis and C. Solomon (2009). "Platelet concentrates transfusion in cardiac surgery and platelet function assessment by multiple electrode aggregometry." Acta Anaesthesiol Scand **53**(2): 168-175.

Ranucci, M., E. Baryshnikova, G. Soro, A. Ballotta, D. De Benedetti and D. Conti (2011). "Multiple electrode whole-blood aggregometry and bleeding in cardiac surgery patients receiving thienopyridines." Ann Thorac Surg **91**(1): 123-129.

Renda, G., M. Zurro, G. Malatesta, B. Ruggieri and R. De Caterina (2010). "Inconsistency of different methods for assessing ex vivo platelet function: relevance for the detection of aspirin resistance." Haematologica **95**(12): 2095-2101.

Rocca, B., F. Santilli, D. Pitocco, L. Mucci, G. Petrucci, E. Vitacolonna, S. Lattanzio, D. Mattoscio, F. Zaccardi, R. Liani, N. Vazzana, A. Del Ponte, E. Ferrante, F. Martini, C. Cardillo, R. Morosetti, M. Mirabella, G. Ghirlanda, G. Davi and C. Patrono (2012). "The recovery of platelet cyclooxygenase activity explains interindividual variability in responsiveness to low-dose aspirin in patients with and without diabetes." J Thromb Haemost **10**(7): 1220-1230.

Sarafoff, N., L. Neumann, T. Morath, I. Bernlochner, J. Mehilli, A. Schomig, A. Kastrati and D. Sibbing (2011). "Lack of impact of calcium-channel blockers on the pharmacodynamic effect and the clinical efficacy of clopidogrel after drug-eluting stenting." Am Heart J **161**(3): 605-610.

Saw, J., D. M. Brennan, S. R. Steinhubl, D. L. Bhatt, K. H. Mak, K. Fox and E. J. Topol (2007). "Lack of evidence of a clopidogrel-statin interaction in the CHARISMA trial." J Am Coll Cardiol **50**(4): 291-295.

Schmidt, M., M. B. Johansen, M. Maeng, A. Kaltoft, L. O. Jensen, H. H. Tilsted, H. E. Botker, J. A. Baron and H. T. Sorensen (2012). "Concomitant use of clopidogrel and statins and risk of major adverse cardiovascular events following coronary stent implantation." Br J Clin Pharmacol **74**(1): 161-170.

Schwartz, K. A., D. E. Schwartz, K. Barber, M. Reeves and A. C. De Franco (2008). "Non-compliance is the predominant cause of aspirin resistance in chronic coronary arterial disease patients." J Transl Med **6**: 46.

Scott, S. A., K. Sangkuhl, E. E. Gardner, C. M. Stein, J. S. Hulot, J. A. Johnson, D. M. Roden, T. E. Klein and A. R. Shuldiner (2011). "Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for cytochrome P450-2C19 (CYP2C19) genotype and clopidogrel therapy." Clin Pharmacol Ther **90**(2): 328-332.

Serebruany, V. L., S. R. Steinhubl, P. B. Berger, A. I. Malinin, J. S. Baggish, D. L. Bhatt and E. J. Topol (2005). "Analysis of risk of bleeding complications after different doses of aspirin in 192,036 patients enrolled in 31 randomized controlled trials." Am J Cardiol **95**(10): 1218-1222.

Sherwood, M. W., C. Melloni, W. S. Jones, J. B. Washam, V. Hasselblad and R. J. Dolor (2015). "Individual Proton Pump Inhibitors and Outcomes in Patients With Coronary Artery Disease on Dual Antiplatelet Therapy: A Systematic Review." J Am Heart Assoc **4**(11).

Siller-Matula, J. M., I. Lang, G. Christ and B. Jilma (2008). "Calcium-channel blockers reduce the antiplatelet effect of clopidogrel." J Am Coll Cardiol **52**(19): 1557-1563.

Smith, J. W., S. R. Steinhubl, A. M. Lincoff, J. C. Coleman, T. T. Lee, R. S. Hillman and B. S. Coller (1999). "Rapid platelet-function assay: an automated and quantitative cartridge-based method." Circulation **99**(5): 620-625.

Snoep, J. D., M. M. Hovens, J. C. Eikenboom, J. G. van der Bom and M. V. Huisman (2007). "Association of laboratory-defined aspirin resistance with a higher risk of recurrent

cardiovascular events: a systematic review and meta-analysis." Arch Intern Med **167**(15): 1593-1599.

Snoep, J. D., M. M. Hovens, J. C. Eikenboom, J. G. van der Bom, J. W. Jukema and M. V. Huisman (2007). "Clopidogrel nonresponsiveness in patients undergoing percutaneous coronary intervention with stenting: a systematic review and meta-analysis." Am Heart J **154**(2): 221-231.

Steinhubl, S. R., P. B. Berger, J. T. Mann, 3rd, E. T. Fry, A. DeLago, C. Wilmer and E. J. Topol (2002). "Early and sustained dual oral antiplatelet therapy following percutaneous coronary intervention: a randomized controlled trial." Jama **288**(19): 2411-2420.

Steinhubl, S. R., J. D. Talley, G. A. Braden, J. E. Tchong, P. J. Casterella, D. J. Moliterno, F. I. Navetta, P. B. Berger, J. J. Popma, G. Dangas, R. Gallo, D. C. Sane, J. F. Saucedo, G. Jia, A. M. Lincoff, P. Theroux, D. R. Holmes, P. S. Teirstein and D. J. Kereiakes (2001). "Point-of-care measured platelet inhibition correlates with a reduced risk of an adverse cardiac event after percutaneous coronary intervention: results of the GOLD (AU-Assessing Ultegra) multicenter study." Circulation **103**(21): 2572-2578.

Tantry, U. S., K. P. Bliden and P. A. Gurbel (2005). "Overestimation of platelet aspirin resistance detection by thrombelastograph platelet mapping and validation by conventional aggregometry using arachidonic acid stimulation." J Am Coll Cardiol **46**(9): 1705-1709.

Tantry, U. S., L. Bonello, D. Aradi, M. J. Price, Y. H. Jeong, D. J. Angiolillo, G. W. Stone, N. Curzen, T. Geisler, J. Ten Berg, A. Kirtane, J. Siller-Matula, E. Mahla, R. C. Becker, D. L. Bhatt, R. Waksman, S. V. Rao, D. Alexopoulos, R. Marcucci, J. L. Reny, D. Trenk, D. Sibbing and P. A. Gurbel (2013). "Consensus and update on the definition of on-treatment platelet reactivity to adenosine diphosphate associated with ischemia and bleeding." J Am Coll Cardiol **62**(24): 2261-2273.

Trenk, D., W. Hochholzer, D. Frundi, C. Stratz, C. M. Valina, H. P. Besthorn, H. J. Buttner and F. J. Neumann (2008). "Impact of cytochrome P450 3A4-metabolized statins on the antiplatelet effect of a 600-mg loading dose clopidogrel and on clinical outcome in patients undergoing elective coronary stent placement." Thromb Haemost **99**(1): 174-181.

Tsantes, A., I. Ikonomidis, I. Papadakis, C. Kottaridi, A. Tsante, E. Kalamara, A. Kardoulaki, P. Kopterides, V. Kapsimali, P. Karakitsos, J. Lekakis and A. Travlou (2012). "Evaluation of the role of the new INNOVANCE PFA P2Y test cartridge in detection of clopidogrel resistance." Platelets **23**(6): 481-489.

Ulm, U. (2010). "PFA (Plättchenfunktionsanalytik)."

Varenhorst, C., S. James, D. Erlinge, O. O. Braun, J. T. Brandt, K. J. Winters, J. A. Jakubowski, S. Olofsson, L. Wallentin and A. Siegbahn (2009). "Assessment of P2Y₁₂ inhibition with the point-of-care device VerifyNow P2Y₁₂ in patients treated with prasugrel or clopidogrel coadministered with aspirin." *Am Heart J* **157**(3): 562.e561-569.

von Beckerath, N., O. von Beckerath, W. Koch, M. Eichinger, A. Schomig and A. Kastrati (2005). "P2Y₁₂ gene H2 haplotype is not associated with increased adenosine diphosphate-induced platelet aggregation after initiation of clopidogrel therapy with a high loading dose." *Blood Coagul Fibrinolysis* **16**(3): 199-204.

Voora, D., J. Horton, S. H. Shah, L. K. Shaw and L. K. Newby (2011). "Polymorphisms associated with in vitro aspirin resistance are not associated with clinical outcomes in patients with coronary artery disease who report regular aspirin use." *Am Heart J* **162**(1): 166-172.e161.

Wang, T. H., D. L. Bhatt and E. J. Topol (2006). "Aspirin and clopidogrel resistance: an emerging clinical entity." *Eur Heart J* **27**(6): 647-654.

Wei, Y. Q., D. G. Wang, H. Yang and H. Cao (2015). "Cytochrome P450 CYP 2C19*2 Associated with Adverse 1-Year Cardiovascular Events in Patients with Acute Coronary Syndrome." *PLoS One* **10**(7): e0132561.

Wurtz, M., E. L. Grove, S. D. Kristensen and A. M. Hvas (2010). "The antiplatelet effect of aspirin is reduced by proton pump inhibitors in patients with coronary artery disease." *Heart* **96**(5): 368-371.

Yusuf, S., F. Zhao, S. R. Mehta, S. Chrolavicius, G. Tognoni and K. K. Fox (2001). "Effects of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation." *N Engl J Med* **345**(7): 494-502.

Zhu, B., M. B. Effron, M. P. Kulkarni, Y. G. Li, J. A. Jakubowski, D. L. Miller, B. A. Baker, J. Luo, D. S. Small and K. J. Winters (2011). "The onset of inhibition of platelet aggregation with prasugrel compared with clopidogrel loading doses using gatekeeping analysis of integrated clinical pharmacology data." *J Cardiovasc Pharmacol* **57**(3): 317-324.

11. Danksagung

An erster Stelle gilt mein Dank meinem Doktorvater **Prof. Dr. med. Florian Langer** für seine methodische und wissenschaftliche Unterstützung während der gesamten Bearbeitungsphase meiner Dissertation.

Priv.-Doz. Dr. med. Constantin Trepte danke ich für die jahrelange Unterstützung meiner medizinischen Laufbahn.

Besonders möchte ich an dieser Stelle meinen Eltern **Dr. med. Mirjana Tomada** und **Michael Tomada**, meinem Bruder **Raoul Tomada** und meiner Freundin **Clara Noebel** für ihre unermüdliche Motivation und Unterstützung danken.

12. Lebenslauf

Lebenslauf entfällt aus datenschutzrechtlichen Gründen.

13. Eidesstattliche 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 Werkes kenntlich gemacht habe.

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

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