

**Aus der Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik
(Department) Tübingen
Abteilung Innere Medizin III
(Schwerpunkte: Kardiologie und Kreislauferkrankungen)
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. M. Gawaz**

**Residuelle Thrombozytenaktivität
bei Diabetikern mit koronarer Stentimplantation
unter dualer antithrombozytärer Therapie**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

Nicole Anders

aus

Bad Harzburg

2010

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. M. Gawaz

2. Berichterstatter: Privatdozent Dr. N. Stefan

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS	I
ABBILDUNGS- UND TABELLENVERZEICHNIS	IV
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	VI
1 EINLEITUNG	1
1.1 Thrombozyten	1
1.1.1 Rolle von Thrombozyten bei Thrombenbildung und Atherosklerose-Entstehung.....	1
1.1.2 Rolle von Thrombozyten beim akuten Koronarsyndrom.....	4
1.2 Prothrombotischer Zustand bei Diabetikern	5
1.2.1 Ursachen und Mechanismen	6
1.2.2 Plättchendysfunktion	6
1.2.3 Endotheldysfunktion.....	7
1.2.4 Gestörte Fibrinolyse	7
1.3 Antithrombozytäre Therapie bei koronaren Interventionen	8
1.3.1 Verwendete Substanzgruppen.....	8
1.3.2 Effektivität der dualen antithrombozytären Therapie	10
1.4 Ansprechen von Thrombozyten auf antithrombozytäre Substanzen	12
1.4.1 Vermindertes Ansprechen auf Aspirin und Clopidogrel.....	12
1.4.2 Klinisch-prognostische Bedeutung von hoher residueller Plättchenaktivität	14
1.5 Bestimmung der residuellen Thrombozytenaktivität	15
1.5.1 ADP und thrombozytäre ADP-Rezeptoren.....	15
1.5.2 Plättcheninhibition durch Clopidogrel	16
1.5.3 Messung der Thrombozytenaggregation	16
1.6 Fragestellung	18

2	PATIENTEN, MATERIAL UND METHODIK	19
2.1	Patientenkollektiv und Studiendesign.....	19
2.2	Definitionen	20
2.3	Aggregometrie	21
2.3.1	Probengewinnung	21
2.3.2	Probenaufbereitung	21
2.3.3	Thrombozytenaggregation	22
2.4	Statistische Auswertung	24
3	ERGEBNISSE.....	25
3.1	Demographische und medizinische Daten des Patientenkollektivs	25
3.2	Plättchenaggregation bei Diabetikern	27
3.3	Einflussfaktoren auf die residuelle Plättchenaggregation bei Diabetikern	28
3.3.1	Akutes Koronarsyndrom	28
3.3.2	Zeitintervall nach Clopidogrelgabe.....	29
3.3.3	Insulin-Therapie und HbA _{1c}	30
4	DISKUSSION.....	33
4.1	Patientenkollektiv	33
4.2	Limitationen der Studienkonzeption.....	33
4.3	Limitationen der Aggregometrie	35
4.3.1	Messbedingungen.....	35
4.3.2	Reproduzierbarkeit.....	35
4.3.3	Zusammenfassende Beurteilung	36
4.4	Ergebnisdiskussion.....	37
4.4.1	Einflussfaktor Diabetes	37
4.4.2	Einflussfaktor akutes Koronarsyndrom	38
4.4.3	Einflussfaktor Zeit.....	39
4.4.4	Einflussfaktor metabolische Ausprägung	40
4.5	Ausblick	42

5	ZUSAMMENFASSUNG	44
A	LITERATURVERZEICHNIS	46
B	VERÖFFENTLICHUNGEN UND VORTRÄGE	56
C	PATIENTENINFORMATION UND EINVERSTÄNDNISERKLÄRUNG	58
D	DANKSAGUNG	62

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildung 1:	Rolle der Thrombozyten bei Thrombenbildung, Atherosklerose- Entstehung und akutem Koronarsyndrom.....	3
Abbildung 2:	Prothrombotischer Zustand bei Diabetikern	5
Abbildung 3:	Typische Aggregationskurven	23
Abbildung 4:	Einflussfaktor akutes Koronarsyndrom	28
Abbildung 5:	Einflussfaktor Zeitintervall.....	30
Abbildung 6:	Einfluss von Insulin-Therapie und HbA _{1c}	31
Abbildung 7:	Einfluss von Insulin-Therapie kombiniert mit HbA _{1c}	32
Tabelle 1:	Demographische und medizinische Daten des Patientenkollektivs ..	26
Tabelle 2:	Plättchenaggregation.....	27

Abkürzungsverzeichnis

ACE.....	angiotensin converting enzyme
ACS.....	akutes Koronarsyndrom
ADP.....	Adenosindiphosphat
ASS.....	Azetylsalizylsäure
AT II.....	Angiotensin II
ATP.....	Adenosintriphosphat
BMI.....	Body Mass Index
D.....	Diabetiker
dl.....	Deziliter
EKG	Elektrokardiogramm
ET-1	Endothelin-1
GP.....	Glykoprotein
HbA _{1c}	glykiertes Hämoglobin
iE.....	internationale Einheiten
KHK.....	koronare Herzkrankheit
m ²	Quadratmeter
mg.....	Milligramm
µg.....	Mikrogramm
ml.....	Milliliter
LDL.....	Low Density Lipoprotein
ND.....	Nicht-Diabetiker
NO.....	Stickstoffmonoxid
PAI.....	Plasminogenaktivator-Inhibitor
PGI ₂	Prostazyklin
PPP.....	plättchenarmes Plasma
PRP.....	plättchenreiches Plasma
PTCA.....	perkutane transluminale koronare Angioplastie
RPA.....	residuelle Plättchenaktivität
SAP.....	stabile Angina pectoris
TXA ₂	Thromboxan A ₂

1 Einleitung

Diabetes mellitus Typ 2 wird begleitet von Plättchenfunktionsstörungen, die zu einem beschleunigten Atherosklerose-Prozess und zu einem erhöhten Risiko für atherothrombotische Komplikationen führen. Dies zeigt sich in einem verminderten Ansprechen der Thrombozyten von Diabetikern auf antithrombozytäre Substanzen sowie in einer schlechteren Prognose von Diabetikern nach akuten koronaren Ereignissen verglichen mit Nicht-Diabetikern.

1.1 Thrombozyten

Neben der physiologischen Funktion von Thrombozyten im Rahmen der Blutgerinnung und Hämostase spielen Thrombozyten auch eine Schlüsselrolle bei der Entstehung und Aufrechterhaltung der Atherosklerose sowie bei atherothrombotischen Komplikationen wie beim akuten Koronarsyndrom (siehe Abbildung 1) [30, 63].

1.1.1 Rolle von Thrombozyten bei Thrombenbildung und Atherosklerose-Entstehung

Die Bildung von Thromben beginnt mit der Adhäsion von Plättchen an eine vorgeschädigte Gefäßwand. Thrombozyten lagern sich mithilfe des von-Willebrand-Faktors über einen an ihrer Oberfläche exprimierten Glykoprotein-Rezeptor an subendothelial freiliegendes Kollagen der Gefäßwand an und werden aktiviert. Dabei bilden sie fingerartige Fortsätze zur Oberflächenvergrößerung aus und schütten zahlreiche Substanzen aus, die zu einer Verstärkung von Plättchenadhäsion und -aktivierung führen und die Aggregation einleiten. Durch Freilegen von Fibrinogen-Bindungsstellen am

Glykoprotein-IIb-IIIa-Rezeptor kommt es zur Aggregation der Thrombozyten untereinander über Fibrinogenbrücken [30, 63]. Die parallel zur Plättchenaktivierung beginnende kaskadenartige Aktivierung der plasmatischen Gerinnungsfaktoren führt zur Bildung von Fibrin, das durch Vernetzung den Thrombozytenpfropf stabilisiert. Zeitgleich mit der Blutgerinnung setzen fibrinolytische Mechanismen ein, die einer überschießenden Thrombenbildung entgegenwirken.

Unter der Vielzahl der von Thrombozyten sezernierten Stoffe werden auch Wachstumsfaktoren und zytokinähnliche Substanzen freigesetzt, die nicht die Blutgerinnung selbst beeinflussen, sondern zur Bildung atherosklerotischer Gefäßwandveränderungen führen [30].

Wachstumsfaktoren tragen einerseits zur Wundheilung bei, indem sie Mitogenese und Angiogenese fördern. Andererseits verstärken sie aber auch durch Interaktion mit glatten Muskelzellen die Intimaproliferation bei Atherosklerose und damit stenosierende Prozesse [63]. Zytokinähnliche Substanzen wie CD40-Ligand und Interleukin-1 beeinflussen als Entzündungsmediatoren entscheidend die chemotaktischen und adhäsiven Eigenschaften von Endothelzellen. Sie begünstigen die Attraktion und die Migration von Monozyten und Makrophagen durch das dysfunktionelle Endothel in die Intima [31, 63]. Dort phagozytieren diese oxidierte Low Density Lipoproteine (LDL) und werden zu sogenannten Schaumzellen. Nach und nach bilden sich zum Gefäßlumen hin fibröse Plaques, die den Lipidkern und eingelagerte Kalksalze bedecken [73].

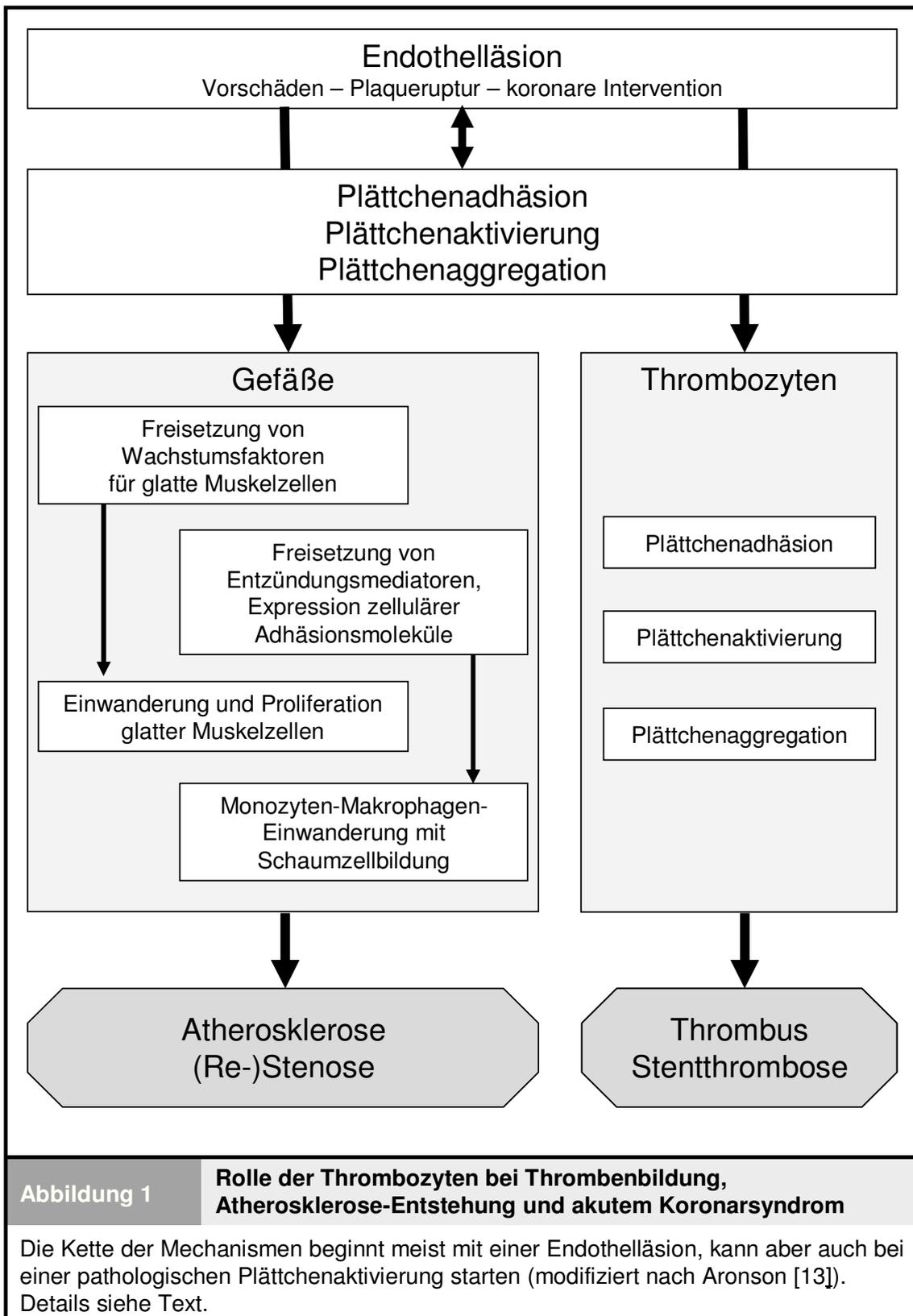


Abbildung 1

Rolle der Thrombozyten bei Thrombenbildung, Atherosklerose-Entstehung und akutem Koronarsyndrom

Die Kette der Mechanismen beginnt meist mit einer Endothelläsion, kann aber auch bei einer pathologischen Plättchenaktivierung starten (modifiziert nach Aronson [13]). Details siehe Text.

1.1.2 Rolle von Thrombozyten beim akuten Koronarsyndrom

Die beschriebenen Mechanismen von Atherosklerose-Entstehung und Thrombenbildung gelten ebenfalls für das akute Koronarsyndrom. Atherosklerose in koronaren Gefäßen führt durch Lumeneinengung zu Gefäßstenosen mit Minderperfusion der Koronararterien, die sich je nach Ausprägungsgrad klinisch als stabile Angina pectoris oder als akutes Koronarsyndrom äußern können [73]. Bei Plaqueruptur mit Freilegung des Endothels kann es zur Entwicklung einer akuten ischämischen Symptomatik kommen. Dabei lagern sich Thrombozyten an subendotheliale Strukturen an und bilden einen plättchenreichen Thrombus, der zu einer hämodynamisch relevanten Lumeneinengung bis zum totalen Gefäßverschluss führen kann.

Koronare Interventionen wie Ballonangioplastie mit oder ohne Stentimplantation verursachen zusätzliche Gefäßwandläsionen durch fortgesetzte mechanische Deformierung und Dehnung. Über so freigelegte subendotheliale Strukturen kommt es zum einen zur Aktivierung von Thrombozyten mit frühen atherothrombotischen Komplikationen, insbesondere Stentthrombosen. Zum anderen führen lokale Fremdkörperreaktionen und Entzündungsprozesse bei koronaren Interventionen thrombozytenvermittelt über neointimale Hyperplasie und Proliferation sowie Aktivierung glatter Muskelzellen zu atherogenen Prozessen im intervenierten Gefäßbereich, welche Rezidivstenosen begünstigen. Studien belegen diese erhöhte Plättchenaktivierung bei Patienten mit akutem Herzinfarkt und koronaren Interventionen wie Ballonangioplastie und Stentimplantation [32, 52].

1.2 Prothrombotischer Zustand bei Diabetikern

Diabetiker befinden sich in einem prothrombotischen Zustand, der sich aus Fehlfunktionen und einer gestörten Interaktion von Thrombozyten, Endothel und Gerinnungssystem ergibt (siehe Abbildung 2). Als Hauptursachen dieser komplexen Dysfunktionen werden in der Literatur Hyperglykämie, Insulinresistenz mit Hyperinsulinämie sowie Hyperlipidämie beschrieben [28].

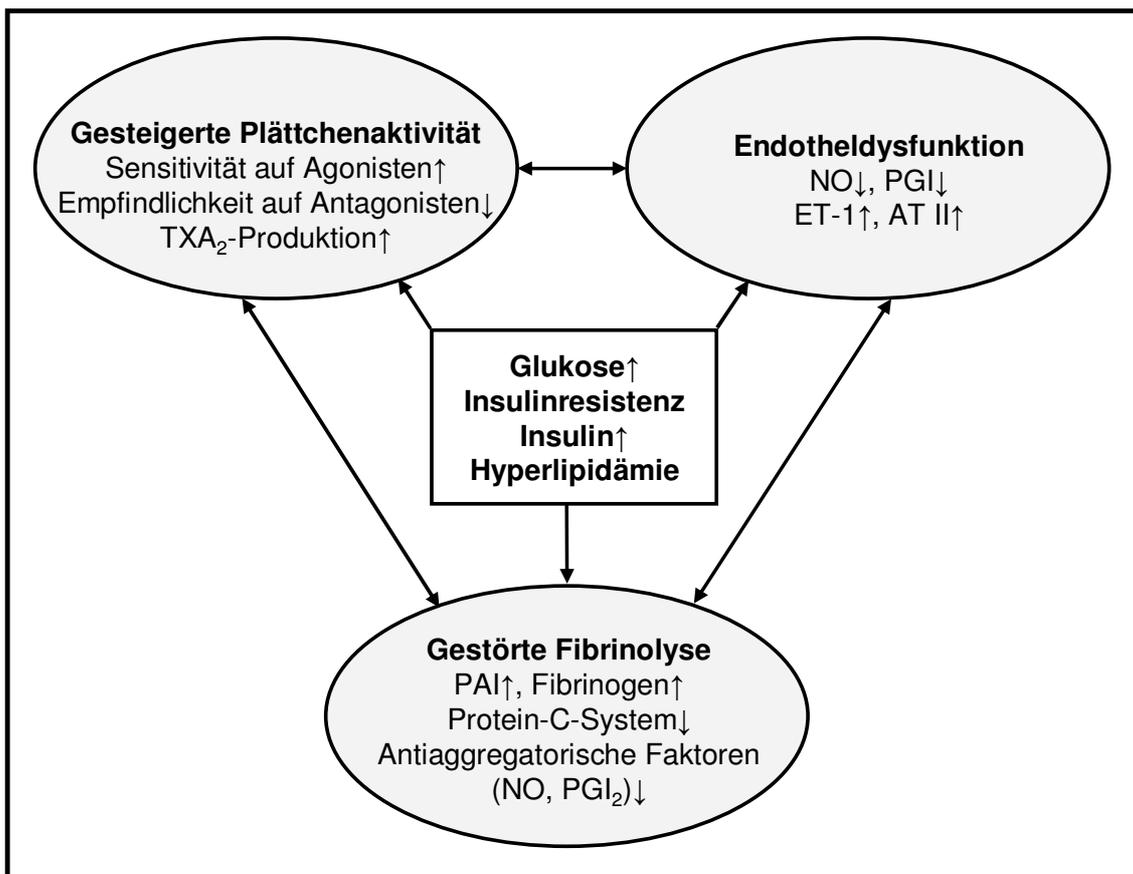


Abbildung 2

Prothrombotischer Zustand bei Diabetikern

Der prothrombotische Zustand bei Diabetikern ergibt sich aus Wechselwirkungen von Störungen der Thrombozyten, des Endothels und der Fibrinolyse.

Verwendete Abkürzungen: TXA₂ = Thromboxan A₂, NO = Stickstoffmonoxid, PGI₂ = Prostazyklin, ET-1 = Endothelin-1, AT II = Angiotensin II, PAI = Plasminogenaktivator-Inhibitor. Genauere Erklärungen siehe Text.

1.2.1 Ursachen und Mechanismen

Hyperglykämie führt über irreversible Glykosylierung von Funktions- und Strukturproteinen zu deren Über- oder Unterfunktion, veränderter extrazellulärer Matrix und Basalmembranverdickung. Hiervon sind natürlich auch Thrombozyten und Endothelzellen betroffen [88]. Sowohl hohe Glukose-Spiegel als auch freie Fettsäuren stimulieren die Produktion reaktiver Sauerstoffspezies in Endothel- und glatten Muskelzellen [17, 51]. Diese reaktiven Sauerstoffspezies führen über einen Mechanismus von oxidativem Stress und Lipidperoxidation zu Schäden an Zellmembranen und haben zahlreiche Dysregulationen zur Folge [28]. Die erhöhten funktionellen Eigenschaften diabetischer Plättchen sind unter anderem Ergebnis der Freisetzung größerer Plättchen aus den Megakaryozyten [82]. Plättchen verfügen über einen Insulinrezeptor [83], der laut mehreren Studien die Plättchenantwort auf Agonisten reduziert und damit die Plättchenaggregation herabsetzt. Insulinresistenz hätte somit eine verstärkte Plättchenaggregation zur Folge [28]. Allerdings ist hinzuzufügen, dass sich in der Studienliteratur sehr widersprüchliche Ergebnisse bezüglich des Einflusses von Insulin auf Plättchen finden, die sich nicht zu einer einheitlichen Theorie zusammenführen lassen [4, 49, 92].

1.2.2 Plättchendysfunktion

Bei Diabetikern sind zahlreiche Plättchenfunktionsstörungen beschrieben [85], von denen einige hier stellvertretend herausgegriffen seien. Plättchen von Diabetikern zeigen ein gesteigertes Ansprechen auf Agonisten und eine vermehrte Interaktion mit Plasmaproteinen (von-Willebrand-Faktor, Fibrinogen, LDL) [84, 85] sowie eine reduzierte Sensitivität auf Antagonisten wie Stickstoffmonoxid (NO) und Prostazyklin (PGI₂) [85], was in der Summe zu einer verstärkten Adhäsion, erhöhten Sekretion und Plättchenaggregation führt. Morphologisch sind Thrombozyten von Diabetikern größer [81] und weisen ein größeres Volumen auf [45] mit einer erhöhten Anzahl und Dichte an Membranglykoproteinen (GPIb, GPIIb-IIIa) [82] und gleichzeitig verminderter Membranfluidität [88]. Dies hat eine vermehrte Rezeptorexposition zur Folge und könnte

für die Hypersensitivität der Thrombozyten verantwortlich sein. Eine gesteigerte Produktion von Thromboxan A₂ [25, 26] wirkt proaggregatorisch, vasokonstriktiv und erhöht das Plättchenturnover und die Fibrinogenbindung. Erhöhte Plättchenaktivierung und –aggregation bergen die Gefahr vermehrter thrombotischer und atherogenetischer Komplikationen.

1.2.3 Endotheldysfunktion

Endotheldysfunktionen beeinflussen die Plättchenfunktion vor allem über gestörte Sekretion von Thrombozytenagonisten bzw. –antagonisten und vasoaktiven Substanzen. Bei Diabetikern ist die endotheliale Produktion von NO [85] und Prostazyklin vermindert, wodurch die endothelabhängige Vasodilatation und Hemmung der Plättchenaktivierung und -aggregation durch NO abgeschwächt wird. Darüber hinaus sind vasokonstriktorische Peptide wie Endothelin-1 und Angiotensin II erhöht [28], was zu verlangsamter Blutströmung und Erhöhung des Thromboserisikos führt. Ein Anstieg von Angiotensin II bewirkt außerdem zusätzliche Effekte wie erhöhte Plättchenaktivität, erhöhte entzündliche Aktivität, Freisetzung reaktiver Sauerstoffspezies, Migration glatter Muskelzellen, Zellwachstum und neointimale Proliferation [87], welche zur Aktivierung der zu Thrombenbildung, Atherosklerose und Restenose führenden Prozesse beitragen.

1.2.4 Gestörte Fibrinolyse

Fehlfunktionen und Störungen des Gerinnungssystems bei Diabetikern sind die dritte Komponente mit Einfluss sowohl auf die Plättchenaktivität als auch auf die Endothelfunktion. Durch erhöhte Spiegel an Fibrinogen und Plasminogenaktivator-Inhibitor (PAI) sowie verminderte Funktion des fibrinolytischen Protein-C-Systems und Mangel an NO und PGI₂ werden die fibrinolytischen Fähigkeiten herabgesetzt und das Thromboserisiko steigt [19, 29, 85].

1.3 Antithrombozytäre Therapie bei koronaren Interventionen

1.3.1 Verwendete Substanzgruppen

Azetylsalizylsäure (ASS[®], Aspirin[®]) hat sich schon seit langem als Standard der präventiven Langzeitstrategie zur Thrombozytenaggregationshemmung bei koronarer Herzerkrankung etabliert. Azetylsalizylsäure hemmt selektiv und irreversibel die Zyklooxygenase und blockiert damit die Synthese von Thromboxan, das vasokonstriktorisch wirkt und die Thrombozytenaggregation fördert. Die Wirksamkeit von Azetylsalizylsäure zur Prävention akut thrombotischer Komplikationen bei koronarer Stentimplantation ist gesichert und die sekundärprophylaktische Therapie mit Azetylsalizylsäure führt zu einer deutlichen Reduktion ischämischer Komplikationen [23]. In der Meta-Analyse der Antithrombotic Trialists' Collaboration zeigte sich für Aspirin ein erwiesener klinischer Nutzen in der Sekundärprävention von Herzinfarkt, Schlaganfall und Tod bei Hochrisiko-Patienten [12]. In einer anderen großen Studie mit über 10.000 Patienten, von denen knapp über 50 % mit Aspirin behandelt wurden, war eine Behandlung mit Aspirin assoziiert mit einer signifikanten Reduktion der Mortalität nach durchschnittlich 5 Jahren unter nicht insulinabhängigen Diabetikern mit koronarer Herzkrankheit. Dabei war der absolute Nutzen von Aspirin bei Diabetikern sogar größer als bei Nicht-Diabetikern [44].

Clopidogrel (Plavix[®], Iscover[®]) und Ticlopidin gehören zur Gruppe der Thienopyridine. Sie hemmen selektiv die Bindung von ADP an den P2Y₁₂-Rezeptor auf der Thrombozytenoberfläche und finden Einsatz bei Unverträglichkeit von Azetylsalizylsäure und sind, in Kombination mit Azetylsalizylsäure, die Standardmedikation nach koronarer Stentimplantation zur Prophylaxe sekundärer atherothrombotischer Komplikationen, insbesondere Stentthrombosen. Aufgrund eines verträglicheren Nebenwirkungsprofils hat Clopidogrel das früher eingesetzte Ticlopidin zunehmend verdrängt [14]. Inzwischen wurden weitere positive Nebeneffekte von Clopidogrel entdeckt, die das Fortschreiten der Atherosklerose und die die Atherosklerose und akute

koronare Ereignisse begleitenden entzündlichen Prozesse günstig beeinflussen (pleiotrope Effekte). Eine Aufsättigungsdosis von 600 mg Clopidogrel reduzierte die ADP-induzierte Degranulation von mitogenen Substanzen, so dass ein Einfluss auf plättchenvermittelte proliferative Prozesse nach koronarer Angioplastie möglich scheint [69]. Clopidogrel-Behandlung ist verbunden mit einer Senkung von inflammatorischen Biomarkern und könnte somit auch über eine entzündungshemmende Komponente bei der Therapie koronarer Herzerkrankungen von zusätzlichem Nutzen sein [8, 78]. Bevor Clopidogrel seine Wirkung im Organismus entfalten kann, wird es hepatisch metabolisiert über das Zytochrom-P450-System. Daran sind hauptsächlich die Isoenzyme 2B6, 3A4 und 2C19 beteiligt [36]. Bei täglicher Gabe von 75 mg Clopidogrel dauert es 3 bis 7 Tage, bis konstante Wirkspiegel und damit die maximal mögliche Inhibition der Plättchenaggregation erreicht sind. Um eine schnellere Plättchenhemmung zu erreichen, wird periinterventionell eine Aufsättigungsdosis Clopidogrel verabreicht [47, 69]. Eine hohe Clopidogrel-Aufsättigungsdosis (> 300 mg) reduziert gegenüber einer niedrigeren Dosis signifikant frühe ischämische Ereignisse bei Patienten mit perkutanen koronaren Interventionen [59, 71]. Diabetiker profitieren mehr von Clopidogrel als von Aspirin [16]. In der Literatur ist eine starke interindividuelle Variabilität der Plättcheninhibition nach Clopidogrel-Einnahme beschrieben [42, 68, 76].

Fibrinogenrezeptor-Antagonisten (GPIIb-IIIa-Rezeptor-Antagonisten) wie zum Beispiel Abciximab (Reopro[®]), Tirofiban (Aggrastat[®]) und Eptifibatid (Integrilin[®]) verhindern die Plättchenaggregation, indem sie die Bindung von Fibrinogen an den GPIIb-IIIa-Rezeptor hemmen. Die zusätzliche Gabe von GPIIb-IIIa-Rezeptor-Antagonisten bei koronaren Interventionen beeinflusst das Mortalitäts- und Morbiditätsrisiko von Patienten mit Diabetes und akutem Koronarsyndrom günstig [62, 72]. In einer Meta-Analyse an 6.458 Diabetikern aus 6 großen Studien zur Anwendung von GPIIb-IIIa-Rezeptor-Antagonisten bei Diabetikern mit akutem Nicht-ST-Streckenhebungsinfarkt mit und ohne Stentimplantation fand man eine signifikante Reduktion der Mortalität in den ersten 30 Tagen im Vergleich zu Nicht-Diabetikern [72]. Mehilli et al. haben in

der ISAR-SWEET-Studie bei Diabetikern, die einer elektiven koronaren Stentimplantation unterzogen worden waren, den Effekt von Abciximab gegenüber Plazebo bei einer Vorbehandlung mit Clopidogrel untersucht. In der Abciximab-Gruppe fand sich nach einem Jahr keine signifikante Reduktion von Todes- oder Herzinfarktfällen gegenüber der Plazebo-Gruppe, jedoch eine signifikante Reduktion von Restenosen und wiederholter Revaskularisation [65]. Gleichzeitig liegen aber auch Ergebnisse von Studien bezüglich oraler Fibrinogenrezeptor-Antagonisten vor, in denen eine Erhöhung der Mortalität beschrieben wird [22], so dass diese Substanzen nur sehr gezielt eingesetzt werden sollten.

1.3.2 Effektivität der dualen antithrombozytären Therapie

Die Effektivität einer dualen antithrombozytären Therapie mit Aspirin und Clopidogrel ist durch Studien belegt. Es ist jedoch in der letzten Zeit bei einem relevanten Anteil kardiovaskulärer Patienten zunehmend ein messtechnisch erfassbares vermindertes Ansprechen auf die Therapie mit Clopidogrel beschrieben worden, was mit der Prognose korreliert.

Die Ergebnisse der COMMIT- und der CURE-Studie sprechen für einen Nutzen der dualen antithrombozytären Therapie bei Patientenkollektiven mit akuten koronaren Ereignissen; sie wurden allerdings nicht getrennt nach Diabetikern und Nicht-Diabetikern ausgewertet. Chen et al. untersuchten in der COMMIT-Studie (Multizenter-Studie) 45.852 Patienten mit akuten Koronarsyndromen auf die Effekte von Clopidogrel plus Aspirin versus Plazebo plus Aspirin und fanden eine signifikante Senkung von Mortalität und größeren kardiovaskulären Ereignissen während des stationären Aufenthalts unter der dualen Therapie [21]. In der CURE-Studie wurden 12.562 Patienten mit akuten Koronarsyndromen ohne ST-Strecken-Hebungen beobachtet. Unter einer Behandlung von Clopidogrel plus Aspirin gegenüber Plazebo plus Aspirin fanden sich über einen Zeitraum bis zu 12 Monaten kardiovaskuläre Ereignisse signifikant reduziert. Allerdings traten auch signifikant mehr Blutungen auf, die jedoch nicht lebensbedrohlich waren [93].

Abgesehen von der Behandlung akuter koronarer Ereignisse scheint eine duale antithrombozytäre Therapie in der Primärprävention bei Risikopatienten nicht von Nutzen zu sein. 15.603 Patienten mit einem hohem kardiovaskulären Risiko, die sich aus einem wesentlichen Anteil von Typ-2-Diabetikern zusammensetzten, wurden in der CHARISMA-Studie in 2 Gruppen randomisiert: Clopidogrel plus Aspirin, Plazebo plus Aspirin. Bei einem mittleren Follow-up von 28 Monaten fand sich kein signifikanter Nutzen der Kombination Clopidogrel plus Aspirin bei Patienten mit stabiler koronarer Herzkrankheit oder multiplen kardiovaskulären Risikofaktoren (wie zum Beispiel Diabetes). Das Risiko moderater bis schwerer Blutungen war erhöht. Dies spricht gegen eine breite prophylaktische Anwendung der dualen antithrombozytären Therapie. Ein potentieller Nutzen wurde jedoch bei Patienten mit symptomatischer koronarer Herzkrankheit gefunden [15].

Bei bestimmten Risikopatienten blieb der erwartete Nutzen aus, so zum Beispiel in der PCI-CURE Studie, in der es bei Diabetikern im Vergleich zu Nicht-Diabetikern nicht zu einer zusätzlichen relativen Risikoreduktion bei einer kombinierten Therapie mit Aspirin und Clopidogrel kam (relatives Risiko: 0,77 gegenüber 0,66) [66]. Serebruany et al. untersuchten in einer Studie 70 Diabetiker ohne koronare Intervention, um die antithrombozytäre Wirkung einer Kombination aus Clopidogrel plus Aspirin gegenüber Aspirin allein zu vergleichen. Dabei verwendeten sie methodisch unter anderem die Aggregometrie und die Verschlusszeit und fanden bei der dualen Behandlung über einen Monat eine signifikant höhere Hemmung der Plättchenaktivität als bei der alleinigen Behandlung mit Aspirin. Allerdings wiesen Diabetiker auch weiterhin ein erhöhtes Risiko für eine hohe residuelle Thrombozytenaggregation auf [75]. Ursache dafür könnte eine verminderte Sensivität der Thrombozyten von Typ-2-Diabetikern auf antithrombozytäre Substanzen sein. Angiolillo et al. beobachteten an einem kleineren Patientenkollektiv (16 Diabetiker, 36 Nicht-Diabetiker), dass die Plättchenaggregation nach Gabe einer Aufsättigungsdosis Clopidogrel von 300 mg bei Diabetikern im Vergleich zu Nicht-Diabetikern über bis zu 24

Stunden signifikant erhöht ist. Außerdem war unter den Diabetikern der Anteil derer höher, die schlechter auf Clopidogrel ansprechen [10].

Diese Beobachtungen legen nahe, dass es sowohl metabolische Einflüsse auf die Wirkung von Clopidogrel bei Diabetikern gibt, als auch die absolute Thrombozytensensitivität für Clopidogrel bei Diabetikern herabgesetzt zu sein scheint. Dies kann verschiedene Ursachen haben. In Kapitel 1.2 wurde schon auf den prothrombotischen Zustand bei Diabetes hingewiesen.

1.4 Ansprechen von Thrombozyten auf antithrombozytäre Substanzen

Ein vermindertes Ansprechen von Thrombozyten auf antithrombozytäre Substanzen ist ein allgemeines Phänomen, das aber bei Diabetikern verstärkt beobachtet wird [9, 10] und mit einer schlechteren klinischen Prognose assoziiert ist [6, 37].

1.4.1 Vermindertens Ansprechen auf Aspirin und Clopidogrel

Die Begriffe „Aspirin-Resistenz“ und „Clopidogrel-Resistenz“ sind inzwischen stehende Begriffe geworden. Sie beschreiben das Versagen von Aspirin bzw. Clopidogrel *in vitro*, die erwartete antithrombozytäre Wirkung zu erzielen. Synonym benutzt man Ausdrücke wie „Hypo-“, „Low-“, „Non-Responder“ sowie „erhöhte residuelle Thrombozytenaktivität“, wenn man das allein messtechnisch erfassbare Therapieversagen beschreibt.

Trotz vieler Studien auf dem Gebiet der Plättchenfunktionsmessungen mangelt es immer noch an standardisierten Methoden, einheitlichen Definitionen und Grenzwerten, um Patienten mit geringem Ansprechen eindeutig zu identifizieren und adäquat behandeln zu können. Uneinheitliche Definitionen erschweren die Vergleichbarkeit von Studienergebnissen untereinander und den sinnvollen, standardisierten klinischen Einsatz von Plättchenfunktionsmessungen. Die

Detektion von „Non-Respondern“ ist stark abhängig von der verwendeten Methode.

Als Goldstandard für das Clopidogrel-Monitoring gilt die Lichttransmissionsaggregometrie, andere Methoden werden aber ebenfalls in Studien beschrieben [38]. Die Inzidenz der suboptimalen Plättcheninhibition ist abhängig von der jeweiligen Definition der Plättchenantwort auf Clopidogrel und schwankt, je nach Messmethode und Studiendesign, zwischen 4 % und 30 % [4, 42, 68]. Beispiele zu den unterschiedlichen Definitionen von „Clopidogrel-Resistenz“: Angiolillo et al. [10] beurteilen die absolute Reduktion der Plättchenaggregation nach 24 Stunden nach einer Aufsättigungsdosis von 300 mg verglichen mit den Baseline-Werten in Prozent und definieren „Non-Responder“ mit einer absoluten Reduktion der Plättchenaggregation von $< 10\%$, „Low-Responder“ mit 10 bis 29 % und „Responder“ mit $\geq 30\%$. Ähnlich bezeichnen Gurbel et al. [42] eine absolute Reduktion der Plättchenaggregation von $\leq 10\%$ als Clopidogrel-Resistenz. Ohne die Plättchenaggregation vor der Clopidogrel-Gabe gemessen zu haben, definieren Geisler et al. „Low-Response“ über die absolute Plättchenaggregation nach einer Aufsättigungsdosis Clopidogrel von über 70 % [35], wobei diese 70 % etwa die untere Grenze des oberen Quartils der ADP-induzierten Plättchenaggregation darstellen. Andere Autoren verwenden die doppelte Standardabweichung vom Mittelwert als Anhalt zur Definition des „Clopidogrel Low-Response“ [76].

Wie bei der Clopidogrel-Resistenz findet man bei der Aspirin-Resistenz eine breite Variabilität in der Ausprägung, uneinheitliche Definitionen und nicht standardisierte Methoden [40, 58]. Lordkipanidze verglich 6 verschiedene Plättchentests in Bezug auf die Detektion von Aspirin-Resistenz und fand je nach Methode und Agonistenkonzentration eine Bandbreite der Aspirin-Resistenz zwischen 6,7 und 59,5 % mit einer nur sehr schwachen Korrelation der Plättchentests untereinander [58]. Bei der Lichttransmissionsaggregometrie ist zu berücksichtigen, dass ADP und Kollagen als induzierende Agonisten nur sehr unspezifische Marker für die Aspirin-Resistenz darstellen, während

Arachidonsäure als spezifischer Agonist als Goldstandard gilt, da sie direkt auf die Zyklooxygenase wirkt [38, 40, 58].

Mögliche Ursachen für das verminderte Ansprechen von Thrombozyten auf antithrombozytäre Substanzen sind vielfältig und noch nicht endgültig geklärt [4]. Extrinsische Mechanismen wie eine reduzierte Bioverfügbarkeit durch Non-Compliance, Unterdosierung oder Interaktionen mit anderen Substanzen könnten dabei eine Rolle spielen. Aber auch intrinsische Mechanismen könnten das Ansprechen der Thrombozyten beeinflussen, und zwar mittels genetischer Variabilität und Polymorphismen von beteiligten Rezeptoren bzw. Enzymen, veränderter Rezeptordichte auf der Thrombozytenoberfläche, erhöhter Freisetzung von ADP und alternativen Wegen der Plättchenaktivierung [4, 36].

1.4.2 Klinisch-prognostische Bedeutung von hoher residueller Plättchenaktivität

Zahlreiche klinische Endpunktstudien, in denen die prognostische Bedeutung des Ansprechens auf die antithrombozytäre Therapie in unselektionierten Patientenkollektiven untersucht wurde, bestätigen, dass bei Patienten mit symptomatischer koronarer Herzkrankheit ein geringes Ansprechen auf Clopidogrel assoziiert ist mit einem erhöhten Risiko für ischämische Ereignisse nach Stentimplantation [24, 35, 41, 43].

Diabetiker weisen ein erhöhtes Risiko für eine hohe residuelle Thrombozytenaggregation auf (vergleiche Kapitel 1.2 und 1.3.2) [10, 75] und stellen damit ein Risikokollektiv für atherothrombotische Komplikationen mit schlechterer Prognose dar. Angiolillo et al. fanden bei 173 Typ-2-Diabetikern mit koronarer Herzerkrankung unter langzeitiger dualer antithrombozytärer Therapie, dass eine hohe Plättchenreaktivität mit einem höheren Langzeit-Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse assoziiert ist [6]. In einer multivariaten Regressionsanalyse wurde ein Score (PREDICT-Score) zur klinischen Abschätzung der residuellen Plättchenaktivität bei Patienten mit symptomatischer koronarer Herzkrankheit erstellt. Dabei fand sich Diabetes als einer mehrerer signifikanter

Einflussfaktoren für eine solche erhöhte residuelle Plättchenaktivität mit schlechterer Prognose in den ersten 30 Tagen nach koronarer Stentimplantation [34].

Hier zeigt sich die klinische Relevanz einer optimalen periinterventionellen Plättchenhemmung für das Risiko von frühen atherothrombotischen Komplikationen nach koronarer Stentimplantation. Daher könnte eine Optimierung der antithrombozytären Therapie, gesteuert durch thrombozytenfunktionsanalytische Verfahren, zu einer Verbesserung der Sekundärprävention thromboembolischer Komplikationen besonders bei Risikokollektiven wie Diabetikern beitragen.

1.5 Bestimmung der residuellen Thrombozytenaktivität

Die ADP-induzierte Plättchenaggregation mittels Lichttransmissionsaggregometrie ist der derzeitige Goldstandard, um Clopidogrel-Effekte zu untersuchen [38].

1.5.1 ADP und thrombozytäre ADP-Rezeptoren

Die thrombozytäre Freisetzung von ADP besitzt einen zentralen Stellenwert in der Aktivierung und Rekrutierung ruhender Thrombozyten zum Plättchenaggregat. Außer von Thrombozyten wird ADP aus der geschädigten Gefäßwand, von Endothelzellen und Erythrozyten freigesetzt [30]. ADP selbst ist nur ein schwacher Plättchenagonist, wenn es aber bei Aktivierung der Thrombozyten ausgeschüttet wird, verstärkt es die Plättchenantwort, die durch andere Plättchenagonisten hervorgerufen wird. Die Bedeutung von ADP für die Thrombenbildung *in vivo* wird belegt durch die klinische Wirksamkeit der antithrombozytären Substanzen der Thienopyridine wie Ticlopidin und Clopidogrel, die den ADP-induzierten Aktivierungsweg hemmen [59, 71].

ADP als Botenstoff für die Plättchenaggregation kann über zwei verschiedene purinerge Rezeptoren wirken, die auf der Thrombozytenoberfläche exprimiert sind [70]. Die Aktivierung des G-Protein-gekoppelten P2Y₁-Rezeptors leitet die

Aggregation ein und bewirkt eine vorübergehende zytosolische Kalziumerhöhung mit einer Formveränderung und einer schwachen, kurzzeitigen Plättchenaggregation [53]. Mit der Aktivierung des G-Protein-gekoppelten P2Y₁₂-Rezeptors kommt es zu einer Potenzierung der Plättchenantwort [79] über die thrombozytäre Ausschüttung von Granula und dadurch vermittelt zu einer anhaltenden Plättchenaggregation über eine Aktivierung des GPIIb-IIIa-Rezeptors mit einer Stabilisierung der Plättchenaggregate. Ein dritter purinerge Rezeptor auf Thrombozyten, der Kationen-Kanal-gekoppelte P2X₁-Rezeptor, wird von ATP aktiviert und führt zu einem raschen, kurzfristigen Kalziumeinstrom mit nur geringem Einfluss auf die Formveränderung des Plättchens [70].

1.5.2 Plättcheninhibition durch Clopidogrel

Angriffspunkt von Thienopyridinen wie Clopidogrel (Plavix[®], Iscover[®]) und Ticlopidin an den Thrombozyten ist der purinerge ADP-Rezeptor P2Y₁₂, an dem Clopidogrel selektiv und irreversibel die Bindung von ADP blockiert [33]. Dadurch kommt es zu einer Hemmung der ADP-induzierten Aktivierung des GPIIb-IIIa-Rezeptors, die im Folgenden zu einer stabilen Hemmung der Plättchenaggregation führt. Darüber hinaus hemmt Clopidogrel auch die durch andere Substanzen ausgelöste Thrombozytenaggregation, indem die Verstärkung der Thrombozytenaktivierung durch das freigesetzte ADP gehemmt wird. Eine unvollständige Hemmung des P2Y₁₂-Rezeptors hat prognostische Bedeutung als Risikofaktor für subakute Stentthrombosen [43].

1.5.3 Messung der Thrombozytenaggregation

Die ADP-induzierte Plättchenaggregation mittels Lichttransmissionsaggregometrie kann als Aggregationskurve aufgezeichnet werden (vergleiche Kapitel 2.3.3, Abbildung 3). Zuerst beobachtet man einen schnellen Anstieg der Aggregationskurve (primäre, noch reversible Aggregation), die im weiteren Verlauf entweder direkt ein Plateau erreicht oder die wieder rückläufig ist und dann in ein Plateau einmündet (sekundäre, irreversible Aggregation). Bezüglich

der Auswertung der Aggregationskurven fehlt in der Fachwelt ein einheitliches, vergleichbares Vorgehen. Man kann unter anderem die maximale Aggregation (Agg_{max}) bestimmen, die Deaggregation oder die späte Aggregation nach einigen Minuten (Agg_{xMin}).

Agg_{max} reflektiert die Aktivität des $P2Y_1$ -Rezeptors, der durch ADP-Bindung aktiviert wird und die kurze, irreversible erste Phase der Plättchenaggregation einleitet. Diese $P2Y_1$ -abhängige Plättchenaggregation kann stark variieren und den Clopidogrel-vermittelten Effekt der Aggregationshemmung auf die Plättchen verschleiern, so dass die zu diesem Zeitpunkt gemessene Agg_{max} eher nur sehr kurzfristige Aggregationseffekte widerspiegelt.

Clopidogrel blockiert nur den $P2Y_{12}$ -Rezeptor, der mit dem Stabilisieren der Plättchenaggregate die irreversible zweite Phase der Plättchenaggregation einleitet. Je nach Stärke dieser zweiten Phase kommt es zu einer Deaggregation oder die Plättchenaggregation mündet in einem Plateau. Die späte Aggregation Agg_{5Min} , mit der in dieser Studie gearbeitet wurde, reflektiert besser die dauerhaften Clopidogrel-Effekte auf die Plättchen über den $P2Y_{12}$ -Rezeptor als Messungen der Spitzenaggregation [11, 56].

1.6 Fragestellung

Diabetes mellitus Typ 2 ist assoziiert mit Plättchenfunktionsstörungen, die zu einem beschleunigten Atherosklerose-Prozess führen und eine wichtige Rolle bei der Entwicklung thromboembolischer Komplikationen nach Stentimplantation spielen. Vorangehende Studien deuten auf schlechtere Ergebnisse für Diabetiker nach akuten koronaren Ereignissen hin. Obwohl Diabetiker von der dualen antithrombozytären Therapie mit Aspirin und Clopidogrel profitieren, weisen sie nach Stentimplantation eine höhere residuelle Plättchenaktivität auf als Nicht-Diabetiker. Schlechtes Ansprechen der Plättchen auf Clopidogrel ist assoziiert mit einer schlechteren klinischen Prognose nach koronarer Stentimplantation.

ADP-induzierte Plättchenaggregation ist der derzeitige Goldstandard, um Clopidogrel-Effekte zu untersuchen. Die Messung der Plättchenaktivierung erlaubt eine Einteilung der Patienten in Hoch- und Niedrig-Risikogruppen bezüglich des Auftretens von Ereignissen nach perkutanen koronaren Interventionen. Bisher wurde bei Diabetikern mit koronarer Stentimplantation das Ansprechen der Blutplättchen auf die antithrombozytäre Therapie nur in kleineren Patientenkollektiven untersucht.

Ziel dieser Arbeit ist es, an einem größeren unselektierten Patientenkollektiv das Ansprechen auf die Standardtherapie mit Aspirin und Clopidogrel bei Typ-2-Diabetikern im Vergleich zu Nicht-Diabetikern nach koronarer Stentimplantation retrospektiv zu untersuchen. Hierzu wird die residuelle Thrombozytenaggregation als Marker verwendet, um die Plättchenreagibilität unter einer dualen Thrombozytenhemmung nach Gabe einer Aufsättigungsdosis Clopidogrel zu beschreiben. Weiterhin soll untersucht werden, welche wesentlichen Einflussfaktoren bei Typ-2-Diabetikern mit koronarer Stentimplantation zu einer erhöhten residuellen Plättchenaktivität beitragen.

2 Patienten, Material und Methodik

2.1 Patientenkollektiv und Studiendesign

Im Rahmen einer monozentrischen Registerstudie an der Medizinischen Klinik der Eberhard-Karls-Universität Tübingen wurden konsekutiv Patienten erfasst, die im Herzkatheterlabor eine koronare Stentimplantation aufgrund einer symptomatischen koronaren Herzerkrankung erhielten und nach Aufklärung der Teilnahme an der Studie schriftlich zugestimmt haben (Patienteninformation und Einverständniserklärung siehe Anhang). Die Genehmigung durch die Ethikkommission der Universität Tübingen lag vor.

Für die retrospektive Analyse der Plättchenaktivität von Diabetikern wurden konsekutiv alle Patienten ausgewertet, die zwischen Februar 2005 und Oktober 2005 in die Studienteilnahme eingewilligt haben.

Alle Patienten nahmen in der Regel täglich 100 mg Aspirin und erhielten zeitnah zur Stentimplantation eine Aufsättigungsdosis Clopidogrel mit einer nachfolgenden täglichen Erhaltungsdosis von 75 mg, sofern keine Kontraindikationen vorlagen. Die Aufsättigungsdosis betrug 600 mg bei erstmaliger Gabe von Clopidogrel bzw. 300 mg bei Patienten mit schon bestehender täglicher Clopidogreleinnahme. Während der Herzkatheteruntersuchung wurde allen Patienten eine Standard-Heparin-Dosis von 7500 iE verabreicht. 2 Patienten bekamen zusätzlich den Glykoprotein-IIb-IIIa-Rezeptorantagonist Abciximab (Reopro®).

Ausschlusskriterien beinhalteten vor allem Kontraindikationen gegen die Behandlung mit Clopidogrel wie Unverträglichkeit gegenüber Clopidogrel oder gegenüber sonstigen Bestandteilen von Iscover® und Plavix®, erhöhtes

Blutungsrisiko, bekannte Plättchenfunktionsstörungen, Thrombozytopenie und eingeschränkte Leberfunktion.

2.2 Definitionen

Diabetes mellitus Typ 2 wurde nach den Empfehlungen der American Diabetes Association definiert [2] und anamnestisch erfasst. Das akute Koronarsyndrom umfasst die instabile Angina pectoris (klinische Symptome und neu aufgetretene EKG-Veränderungen ohne Anstieg myokardialer Nekrosemarker) und den akuten Herzinfarkt mit Anstieg herzspezifischer Enzyme (Troponin oder CK-MB), unterteilt in ST-Hebungs-Myokardinfarkt (STEMI) und Nicht-ST-Hebungs-Myokardinfarkt (NSTEMI). Stabile Angina pectoris (SAP) wurde durch das Vorhandensein von stabilen belastungsabhängigen Brustschmerzen kardialer Genese in der Vorgeschichte des Patienten sowie durch einen positiven Belastungstest definiert. Schwere linksventrikuläre Dysfunktion lag definitionsgemäß bei einer Ejektionsfraktion unter 35 % vor. Niereninsuffizienz wurde ab einem Kreatinin-Wert von über 1,5 mg/dl definiert.

Kardiovaskuläre Risikofaktoren wurden anamnestisch erfasst. Hypertonie lag bei Einnahme von Antihypertensiva oder neu aufgetretenem Bluthochdruck von über 140/90 mmHg vor. Hypercholesterinämie und Hyperlipoproteinämie wurden unter Hyperlipidämie subsummiert und bei Einnahme von Cholesterin-/Lipidsenkern und bei Werten für Cholesterin \geq 220 mg/dl oder Serumtriglyzerid-Konzentrationen von \geq 150 mg/dl erfasst. Als Raucher wurden Patienten definiert mit gegenwärtigem Nikotinkonsum oder Ex-Raucher, die bis ein Jahr vor Einschluss in die Studie geraucht haben. Eine positive Familienanamnese für kardiovaskuläre Erkrankungen lag vor, wenn ein frühes Auftreten atherosklerotischer Erkrankungen bei Angehörigen ersten Grades bekannt war.

2.3 Aggregometrie

2.3.1 Probengewinnung

Die einmalige Blutentnahme mit nachfolgender Untersuchung der Plättchenfunktion erfolgte bei den Patienten ab dem Zeitpunkt der erwarteten maximalen Plättchenhemmung, d. h. frühestens 6 Stunden nach Gabe der Aufsättigungsdosis Clopidogrel. Bei den 2 Patienten, die im Herzkatheterlabor zusätzlich Reopro[®] als GPIIb-IIIa-Antagonist erhalten hatten, wurde frühestens 5 Tage nach Ende der Reopro[®]-Gabe eine Plättchenaggregation durchgeführt.

Die Blutentnahme erfolgte unter schonender Stauung über eine Monovette[®]-Kanüle in eine S-Monovette[®] zu 10 ml, die 1 ml 3,8%ige Zitratlösung enthielt (Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland). Nach erfolgter Blutentnahme wurde das Blut unmittelbar der Zentrifugation zugeführt und durchschnittlich innerhalb von 1 bis 3 Stunden aggregiert. Alle Verarbeitungsschritte erfolgten bei Raumtemperatur.

2.3.2 Probenaufbereitung

Unmittelbar nach der Blutentnahme erfolgte die Aufbereitung der Probe zur Thrombozytenaggregation mit der Herstellung von plättchenreichem (PRP) und plättchenarmem Plasma (PPP).

Plättchenreiches Plasma (PRP) wurde gewonnen durch niedrigtourige Zentrifugation für 10 Minuten in der Megafuge 1.0 R Heraeus (Kendro, Langenselbold, Deutschland) bei 1000 Umdrehungen pro Minute, entsprechend 173 g relativer Zentrifugalbeschleunigung, ohne Abbremsen zur Beendigung der Zentrifugation. Einige Milliliter PRP wurden zur Aufbewahrung in ein Polystyrol-Röhrchen abpipettiert (Greiner Bio-One GmbH, Essen, Deutschland). Zur Herstellung von plättchenarmem Plasma (PPP) wurde in einem zweiten Schritt für nochmals 10 Minuten die Probe mit 3500 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert, entsprechend einer Zentrifugalbeschleunigung von 2122 g, mit eingeschalteter Bremsfunktion.

Um das PRP durch Zufügen einer entsprechenden Menge von PPP auf eine Thrombozytenkonzentration von etwa 200.000 Plättchen/ μ l einzustellen, erfolgte eine Bestimmung der Thrombozytenzahl des plättchenreichen Plasmas (PRP) mithilfe des vollautomatischen Blutzell-Analyse-Gerätes Sysmex SE-9000 (Sysmex Europe GmbH, Norderstedt, Deutschland).

Zum Pipettieren wurden Eppendorfpipetten mit Pipettenspitzen mit den Volumina 10-100 μ l und 100-1000 μ l verwendet sowie farblose Safe-Lock Reaktionsgefäße zu je 2 ml (Eppendorfhütchen, Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Wesseling-Berzdorf, Deutschland).

2.3.3 Thrombozytenaggregation

Die Thrombozytenaggregation wurde bestimmt mittels Lichttransmissionsaggregometrie in einem 2-Kanal-Vollblut-Lumi-Aggregometer der Modell-Serie 490 (Aggregometer, Schreiber und alle weiteren zur Aggregation benötigten Materialien wie Glasküvetten, silikonisierte Einmalrührstäbchen und die Reagenzien CHRONO-PAR[®] ADP und CHRONO-PAR[®] Kollagen stammen sämtlich von Chrono-log Corporation, Havertown, PA, USA, Vertrieb über Probe & go Labordiagnostica GmbH, Endingen, Deutschland).

490 μ l trübes, plättchenreiches Plasma (PRP), auf eine Thrombozytenkonzentration von etwa 200.000 Plättchen/ μ l eingestellt, wurde in einer Glasküvette bei 37 °C mit einer konstanten Rührstäbchengeschwindigkeit von 1000 Umdrehungen pro Minute gerührt. Als Referenzmaterial diente 500 μ l klares, plättchenarmes Plasma (PPP) in einer zweiten Glasküvette zur Bestimmung des Leerwertes. Beide wurden für 2 Minuten erwärmt, bevor 10 μ l ADP-Reagenz (entsprechend 20 μ mol/l ADP) bzw. Kollagen-Reagenz (entsprechend 5 μ g/ml Kollagen) zum PRP hinzugefügt wurden, um die Thrombozytenaggregation zu starten.

Die Lichttransmissionsaggregometrie zur Bestimmung der Thrombozytenaggregation basiert auf folgendem Prinzip: Im Aggregometer sind die Küvetten zwischen einer Lichtquelle und einer Photozelle platziert. Nach Zugabe der

Reagenzien aggregieren die Plättchen und die Lichtdurchlässigkeit des Plasmas steigt. Der Anstieg der Lichtdurchlässigkeit ist direkt proportional zu der Menge der Aggregate und wird mittels eines Schreibers aufgezeichnet. Plättchenarmes Plasma mit der maximalen Lichtdurchlässigkeit stellt als Leerwert den 100 %-Wert der Lichttransmission dar, während das trübe plättchenreiche Plasma die Nulllinie der Lichttransmission darstellt, so dass sich die Thrombozytenaggregation in Prozent vom Leerwert auftragen lässt.

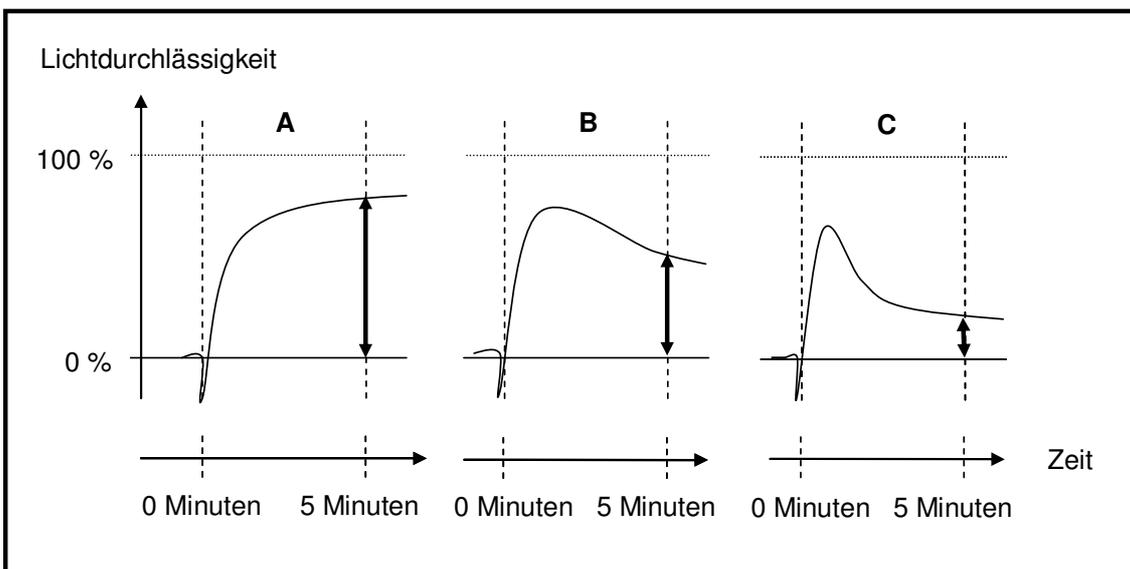


Abbildung 3 Typische Aggregationskurven

Eine Lichtdurchlässigkeit von 100 % entspricht einer residuellen Plättchenaggregation von 100 %. Zum Zeitpunkt 0 Minuten erfolgt die Zugabe der Reagenzien. Die Aggregation nach 5 Minuten ist durch den dicken Pfeil markiert. Das Aggregationsmaximum wurde nicht gesondert gekennzeichnet. Die Kurve in A zeigt 5 Minuten nach Reagenzienzugabe eine nahezu 100%ige residuelle Plättchenaggregation, was unter Clopidogrel-Behandlung für ein schlechtes Ansprechen der Thrombozyten auf Clopidogrel spricht. Kurve C steht für ein gutes Ansprechen mit geringer residueller Thrombozytenaggregation.

Abbildung 3 zeigt drei klassische Verläufe der Aggregationskurven. Die Aggregation wird in Prozent Lichttransmission angegeben. Vor Beginn der Aggregation wird das Gerät auf eine Lichtdurchlässigkeit von 100 % geeicht, was einer Aggregation von 100 % entspricht. Direkt nach Zugabe der Reagenzien findet sich in allen Kurven ein kurzes, schnelles Absinken unter die Nulllinie, entsprechend einer Abnahme der Lichttransmission, die im Zusammenhang mit dem „shape change“, der Formveränderung der Thrombozyten

gesehen wird [30]. Im Folgenden kommt es zu einem Anstieg der Aggregationskurve (primäre, noch reversible Aggregation), die im weiteren Verlauf entweder direkt ein Plateau erreicht oder die wieder rückläufig ist und dann in ein Plateau einmündet (sekundäre, irreversible Aggregation).

Klassischerweise sollte die Plättchenaggregation unter Clopidogrel-Behandlung bei gutem Ansprechen der Thrombozyten auf Clopidogrel nahezu auf Null absinken. Verbleibt jedoch eine hohe prozentuale Plättchenaggregation unter der Behandlung mit Clopidogrel, bezeichnen wir dies als residuelle Thrombozytenaktivität oder -aggregation. Diese residuelle Thrombozytenaggregation in Prozent, bestimmt durch Lichttransmissionsaggregometrie 5 Minuten nach Zugabe der Reagenzien, ist ein Maß für das Ansprechen der Thrombozyten auf Clopidogrel.

2.4 Statistische Auswertung

Die statistische Datenanalyse erfolgte mithilfe der Software SPSS (Version 13.0, SPSS, Chicago, IL).

Dichotome Variablen, wie zum Beispiel Häufigkeitsangaben von Diabetikern und Nichtdiabetikern, wurden mit einem χ^2 -Test verglichen. Unterschiede zwischen Mittelwerten von kontinuierlichen Variablen mit Normalverteilung wurden mit dem Student-T-Test für unabhängige Stichproben untersucht. Der U-Test (Mann-Whitney) wurde angewandt, um die Plättchenaggregation zwischen zwei Subgruppen zu vergleichen und der Kruskal-Wallis-Test zum Vergleich mehrerer Gruppen. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ wurde als statistisch signifikant angesehen.

3 Ergebnisse

3.1 Demographische und medizinische Daten des Patientenkollektivs

Im Zeitraum von Februar bis Oktober 2005 (23.02.2005 bis 28.10.2005) wurden konsekutiv 485 von 686 Patienten (70,7 %) erfasst, die im Herzkatheterlabor der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen eine koronare Stentimplantation erhielten. Dabei wurden 264 Patienten (54,0 %) elektiv behandelt bei stabiler Angina pectoris, 221 Patienten (46,0 %) notfallmäßig bei akutem Koronarsyndrom. 409 Patienten (84,3 %) erhielten eine Aufsättigungsdosis Clopidogrel von 600 mg, 76 Patienten (15,7 %) bekamen 300 mg und 2 Patienten erhielten zusätzlich Reopro®.

Von allen Patienten waren 161 (33,2 %) Diabetiker, 70 von ihnen wurden mit Insulin behandelt (43,5 %). Bei den Diabetikern lag der durchschnittliche HbA_{1c}-Wert bei $7,7 \pm 1,6$ % und das Blutglukose-Niveau bei 172 ± 63 mg/dl. Tendenziell war der Anteil von Frauen unter den Diabetikern etwas höher als unter den Nicht-Diabetikern (nicht signifikant). Diabetiker waren geringfügig älter ($69,5 \pm 8,8$ Jahre gegenüber $66,3 \pm 10,7$ Jahre, $p = 0,001$) und hatten häufiger eine Niereninsuffizienz ($p < 0,001$). Diabetiker wiesen häufiger eine schwere linksventrikuläre Dysfunktion auf (nicht signifikant) und zeigten häufiger einen hochgradigen Befall der Koronararterien (3-KHK häufiger, nicht signifikant). Bezüglich kardiovaskulärer Risikofaktoren fand man bei Diabetikern einen signifikant erhöhten BMI ($29,1 \pm 5,3$ gegenüber $26,4 \pm 4,1$, $p < 0,001$) und eine signifikant niedrigere Anzahl an Rauchern ($p < 0,001$). Diabetiker erhielten deutlich mehr Diuretika, wohingegen Betablocker und Statine tendenziell

weniger häufig gegeben wurden. Einen Überblick über die demographischen und medizinischen Daten gibt Tabelle 1.

Tabelle 1		Demographische und medizinische Daten des Patientenkollektivs		
	Patienten gesamt (n = 485)*	Nicht- Diabetiker (n = 324)*	Diabetiker (n = 161)*	p-Wert 2-seitig
Alter (Jahre)	67,4 ± 10,2	66,3 ± 10,7	69,5 ± 8,8	0,001
Geschlecht (männlich)	352 (72,6)	244 (75,3)	108 (67,1)	0,06
BMI (kg/m ²)	27,5 ± 4,7	26,6 ± 4,1	29,1 ± 5,3	< 0,001
Kardiovaskuläre Risikofaktoren				
Bluthochdruck	374 (77,1)	242 (74,7)	132 (82,0)	0,07
Familienanamnese	134 (27,6)	93 (28,7)	41 (25,5)	0,45
Hyperlipidämie	282 (58,1)	198 (61,1)	84 (52,2)	0,06
Raucher	183 (37,7)	140 (43,2)	43 (26,7)	< 0,001
Medizinische Anamnese				
1-Gefäß-KHK	131 (27,1)	89 (27,6)	42 (26,1)	} 0,09
2-Gefäß-KHK	149 (30,8)	108 (33,5)	41 (25,5)	
3-Gefäß-KHK	203 (42,0)	125 (38,8)	78 (48,4)	
Akutes Koronarsyndrom	221 (45,6)	149 (46,0)	72 (44,7)	0,79
Schwere LV-Dysfunktion	39 (8,1)	21 (6,5)	18 (11,2)	0,12
Niereninsuffizienz	95 (23,1)	48 (17,7)	47 (33,6)	< 0,001
Medikamente				
Aspirin	474 (97,7)	317 (97,8)	157 (98,1)	0,83
ACE-Inhibitoren	388 (80,0)	261 (80,6)	127 (78,9)	0,66
AT-Rezeptor-Blocker	56 (11,5)	42 (13,0)	14 (8,7)	0,16
Beta-Blocker	440 (90,7)	301 (92,9)	139 (86,3)	0,02
Diuretika	188 (38,8)	107 (33,0)	81 (50,3)	< 0,001
Kalzium-Kanal-Blocker	48 (9,9)	29 (9,0)	19 (11,8)	0,33
Statine	424 (87,4)	293 (90,4)	131 (81,4)	0,06
<p>Statistische Auswertung: Alter und BMI sind angegeben mit Mittelwert und Standardabweichung (T-Test), alle anderen Angaben beziehen sich auf die Anzahl und Prozent (χ²-Test).</p> <p>Verwendete Abkürzungen: BMI = Body Mass Index, Zeitdifferenz = verstrichene Stunden zwischen Gabe der Initialdosis bis zur Aggregometrie, KHK = koronare Herzkrankheit, Schwere LV-Dysfunktion = schwere linksventrikuläre Dysfunktion mit einer Ejektionsfraktion von unter 30 %, ACE = angiotensin-converting enzyme, AT = Angiotensin.</p> <p>*Von nicht allen 485 Patienten konnten alle Daten retrospektiv erfasst werden. So ließ sich der BMI bei 435 Patienten erheben (290 ND (= Nicht-Diabetiker), 145 D (= Diabetiker)). Angaben über 1- bis 3-Gefäß-KHK fanden sich bei 483 Patienten (322 ND, 161 D). Der Kreatinin-Wert zur Bestimmung der Niereninsuffizienz lag vor bei 411 Patienten (271 ND, 140 D).</p>				

3.2 Plättchenaggregation bei Diabetikern

Die durchschnittliche Zeitdifferenz zwischen Gabe der Aufsättigungsdosis Clopidogrel bis zur Aggregometrie konnte retrospektiv bei 350 Patienten ermittelt werden (224 Nicht-Diabetiker, 126 Diabetiker) und betrug $46,6 \pm 99,3$ Stunden.

Tabelle 2		Plättchenaggregation		
	Patienten gesamt (n = 485)*	Nicht- Diabetiker (n = 324)*	Diabetiker (n = 161)*	p-Wert 2-seitig
Plättchenanzahl ($\times 10^3/\mu\text{l}$) ¹	267 \pm 94,2	269 \pm 95,8	262 \pm 91,2	0,49
ADP-induziert (%) ²	34,3 (36,4)	31,8 (36,3)	40,0 (34,3)	< 0,01
Kollagen-induziert (%) ²	38,1 (29,6)	36,7 (27,5)	42,5 (30,7)	0,10

Statistische Auswertung: ¹ Angaben in Mittelwert und Standardabweichung (T-Test),
² Angaben in Median und Quartilabstand (Mann-Whitney).
 Verwendete Abkürzungen: ADP = Adenosindiphosphat.
 *Von nicht allen 485 Patienten konnten alle Daten retrospektiv erfasst werden. Bei 403 Patienten wurde die Plättchenanzahl über ein Blutbild ermittelt und dokumentiert (267 Nicht-Diabetiker, 136 Diabetiker).

Bezüglich der residuellen ADP-induzierten Plättchenaggregation fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen der 300 mg- und der 600 mg-Clopidogrel-Aufsättigungsgruppe (36,1 % gegenüber 33,6 %, nicht signifikant). Zudem war der Anteil der Patienten mit der geringeren Aufsättigungsdosis von 300 mg unter den Diabetikern und Nicht-Diabetikern annähernd gleich verteilt (18,4 % gegenüber 15,9 %, nicht signifikant), so dass bei der Auswertung keine Trennung bezüglich der verschiedenen Dosisgruppen vorgenommen wurde.

Die residuelle ADP-induzierte Plättchenaggregation nach einer Clopidogrel-Aufsättigungsdosis lag bei Diabetikern signifikant höher als bei Nicht-Diabetikern (40,0 % gegenüber 31,8 %, $p < 0,01$, siehe Abbildung 4). Bei der Kollagen-induzierten Aggregation als Marker für vermindertes Ansprechen von Plättchen auf Aspirin ergab sich ein tendenzieller, jedoch nicht signifikanter Unterschied (42,5 % gegenüber 36,7 %, $p = 0,10$). Weder in der Plättchenanzahl noch in der Zeitdifferenz zwischen Gabe der Aufsättigungsdosis und Durchführung der Aggregometrie gab es signifikante Unterschiede zwischen Diabetikern und Nichtdiabetikern.

3.3 Einflussfaktoren auf die residuelle Plättchenaggregation bei Diabetikern

3.3.1 Akutes Koronarsyndrom

In einer Subgruppenanalyse zwischen Patienten mit koronarer Stentimplantation bei stabiler Angina pectoris und Patienten mit akutem Koronarsyndrom fand sich bei Diabetikern mit akutem Koronarsyndrom ein geringeres Ansprechen der Plättchen auf die duale antithrombozytäre Therapie als bei Nicht-Diabetikern mit akutem Koronarsyndrom. Dies zeigte sich in der signifikant erhöhten residuellen Plättchenaggregation von Diabetikern nach der Clopidogrel-Aufsättigungsdosis verglichen mit Nicht-Diabetikern mit akutem Koronarsyndrom sowohl bei der ADP-induzierten als auch bei der Kollagen-induzierten Plättchenaggregation (ADP-induzierte Aggregation 46,3 % gegenüber 35,8 %, $p = 0,002$, siehe Abbildung 4; Kollagen-induzierte Aggregation 45,7 % gegenüber 36,3 %, $p = 0,005$, nicht abgebildet).

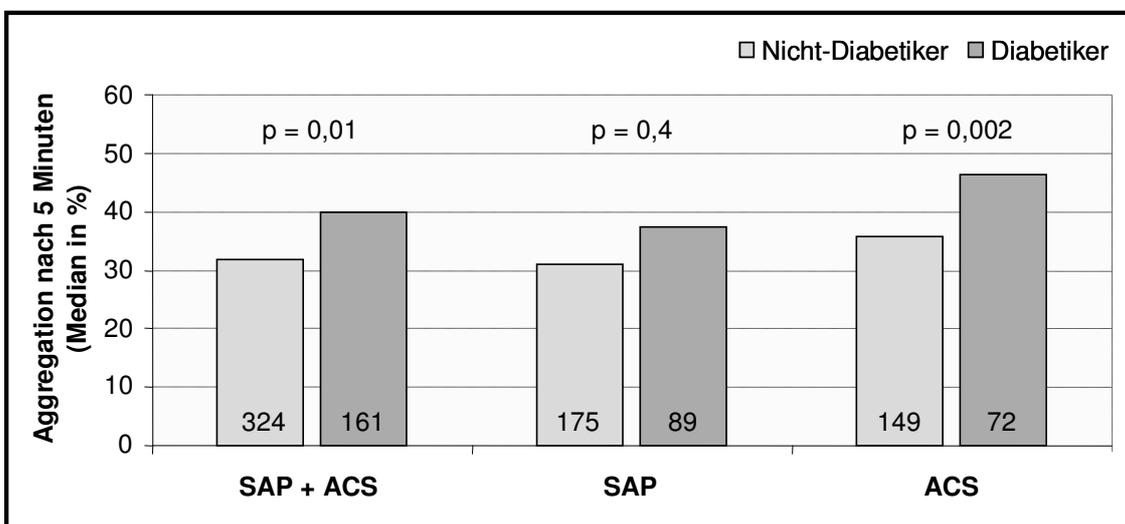


Abbildung 4 Einflussfaktor akutes Koronarsyndrom

Dargestellt ist die residuelle ADP-induzierte Plättchenaggregation nach einer Clopidogrel-Aufsättigungsdosis bei Nicht-Diabetikern und Diabetikern mit stabiler Angina pectoris (SAP) und akutem Koronarsyndrom (ACS). In den Säulen ist die Anzahl der Patienten in der jeweiligen Gruppe aufgetragen.

Bei Patienten mit stabiler Angina pectoris dagegen ließ sich keine signifikante Erhöhung der residuellen Plättchenaggregation bei Diabetikern gegenüber Nicht-Diabetikern beobachten, wenngleich eine Tendenz zu höherer Aggregation vorhanden war.

3.3.2 Zeitintervall nach Clopidogrelgabe

Die mediane ADP-induzierte residuelle Plättchenaggregation war bei Diabetikern mit akutem Koronarsyndrom 6 bis 12 Stunden nach Gabe der Clopidogrel-Aufsättigungsdosis am höchsten (siehe Abbildung 5). Nicht-Diabetiker mit akutem Koronarsyndrom hatten in demselben Zeitraum eine signifikant niedrigere residuelle Plättchenaggregation ($p = 0,03$). In den folgenden Zeiträumen fielen die Werte für die residuelle Plättchenaggregation bei Diabetikern mit akutem Koronarsyndrom signifikant gegenüber den ersten 6 Stunden ab ($p = 0,04$ für die Zeit zwischen 12 und 24 Stunden, $p = 0,005$ für die Zeit über 24 Stunden hinaus). Nach über 12 Stunden nach Gabe der Aufsättigungsdosis traten zwischen Diabetikern und Nicht-Diabetikern mit akutem Koronarsyndrom keine signifikanten Unterschiede mehr auf, allerdings wiesen Diabetiker tendenziell höhere mediane Werte als Nicht-Diabetiker mit akutem Koronarsyndrom auf. In der univariaten Analyse fand sich keine signifikant unterschiedliche Verteilung bezüglich Alter, Geschlecht, Ko-Medikation und kardiovaskulären Risikofaktoren zwischen diesen Zeitgruppen außer einem leicht erhöhten Anteil an Rauchern unter allen Patienten, die in dem Intervall zwischen 6 und 12 Stunden gemessen worden sind.

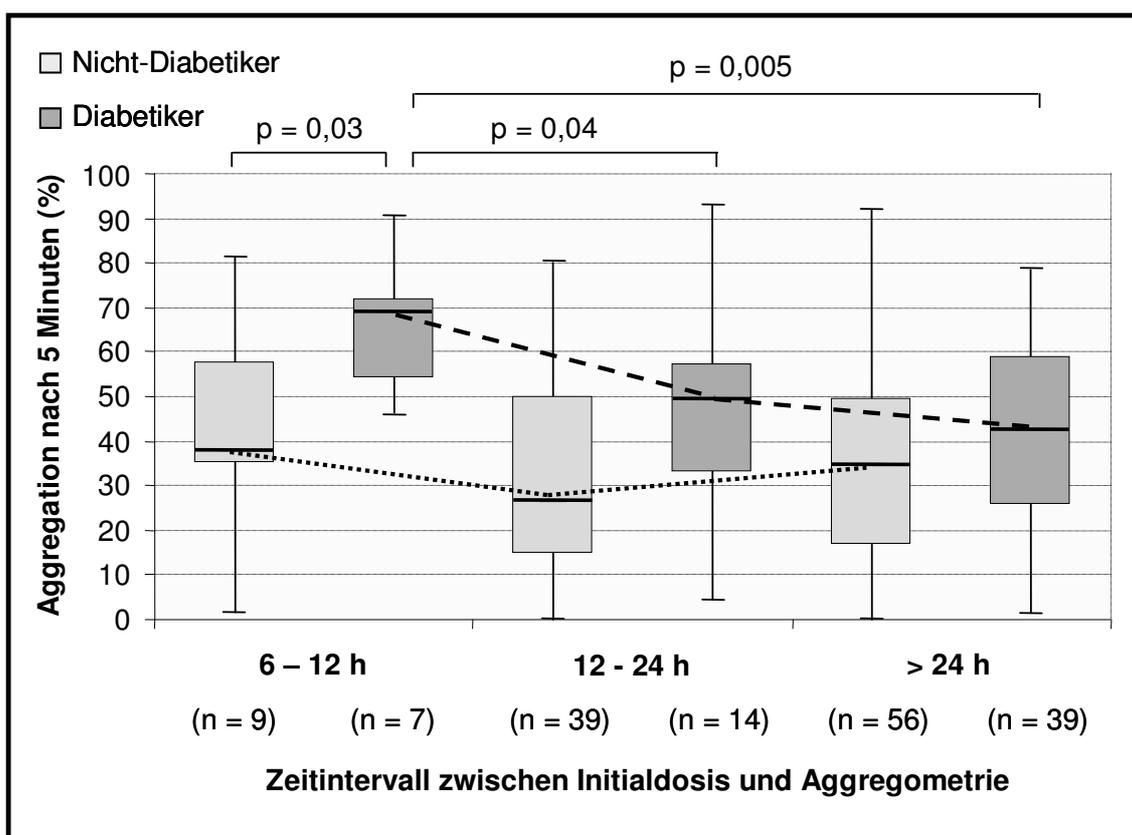


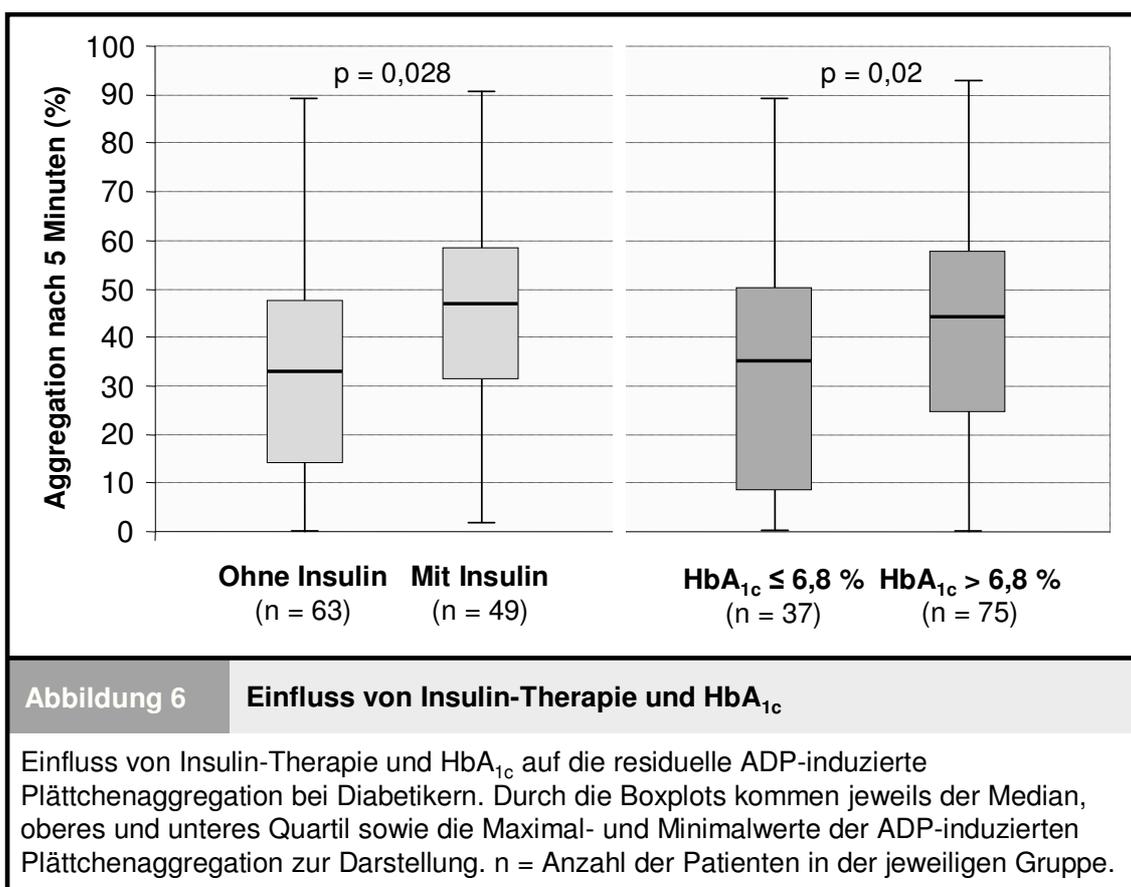
Abbildung 5

Einflussfaktor Zeitintervall

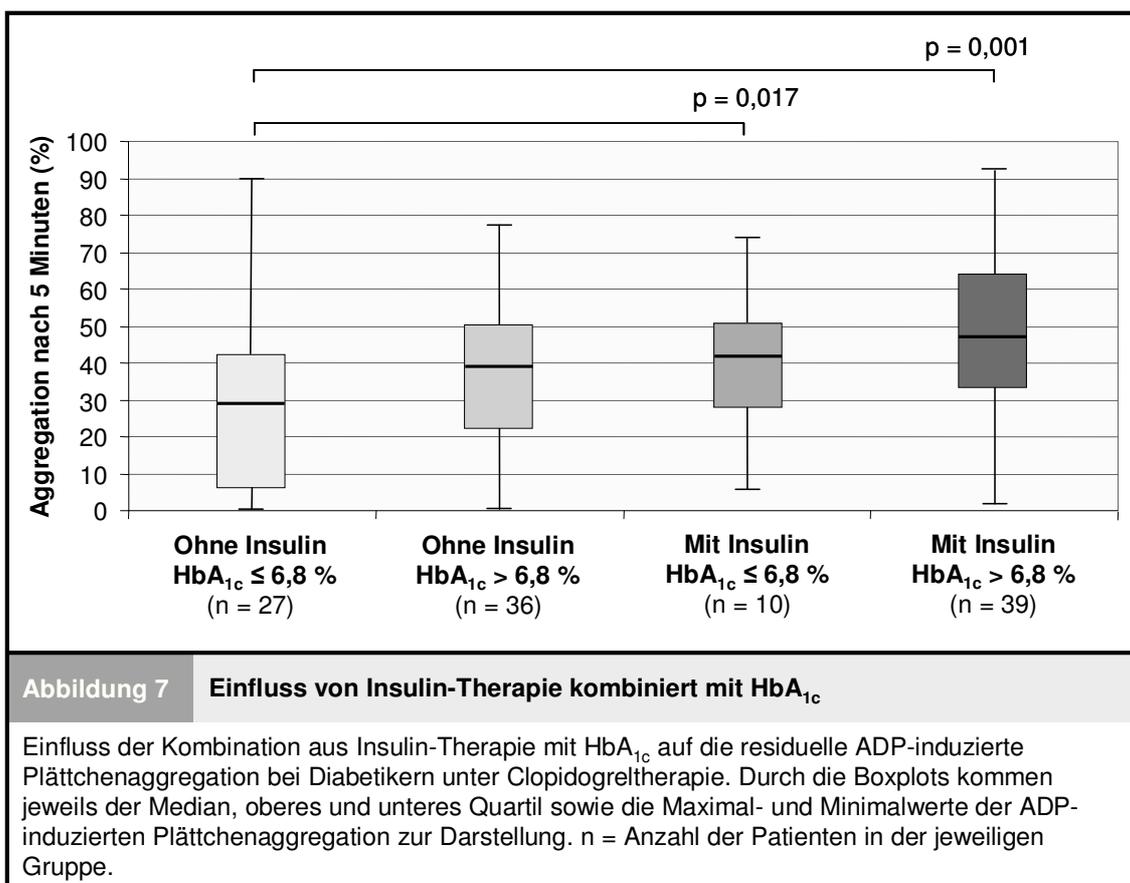
Einfluss des Zeitintervalls zwischen Gabe der Aufsättigungsdosis und Aggregation auf die residuelle ADP-induzierte Plättchenaggregation bei Diabetikern mit akutem Koronarsyndrom im Vergleich zu Nicht-Diabetikern mit akutem Koronarsyndrom. Durch die Boxplots kommen jeweils der Median, oberes und unteres Quartil sowie die Maximal- und Minimalwerte der ADP-induzierten Plättchenaggregation zur Darstellung. n = Anzahl der Patienten in der jeweiligen Gruppe.

3.3.3 Insulin-Therapie und HbA_{1c}

Diabetiker unter Insulin-Therapie zeigten eine signifikant erhöhte mediane residuelle Plättchenaggregation nach Stimulation mit ADP gegenüber den Diabetikern, die nicht mit Insulin behandelt wurden (46,3 % gegenüber 32,5%, $p = 0,028$) (siehe Abbildung 6). Ebenfalls fanden sich signifikante Unterschiede bei Diabetikern mit einem HbA_{1c} von über 6,8 % gegenüber Diabetikern mit niedrigerem HbA_{1c} (mediane Plättchenaggregation von 44,6 % gegenüber 35,0 %, $p = 0,02$).



Bei einer kombinierten Auswertung, in der Insulin-Therapie und HbA_{1c}-Wert gekoppelt wurden, ergaben sich signifikante Unterschiede in der medianen Plättchenaggregation zwischen Patienten mit besserer und Patienten mit schlechterer Stoffwechseleinstellung, wobei sowohl Insulin-Behandlung als auch ein hoher HbA_{1c} für eine deutliche metabolische Ausprägung des Diabetes mellitus stehen (siehe Abbildung 7). Patienten ohne Insulin-Therapie mit einem HbA_{1c} ≤ 6,8 % hatten eine niedrigere mediane residuelle Plättchenaggregation als Patienten unter Insulin-Therapie mit gleichem HbA_{1c} (p = 0,017) und als Patienten mit Insulin-Therapie und einem höheren HbA_{1c}-Wert (p = 0,001).



Auswertungen zum Body Mass Index als weiterem Parameter für die Stoffwechsellage führten bei den Diabetikern in diesem Kollektiv nicht zu signifikanten Veränderungen in der medianen Plättchenaggregation nach 5 Minuten.

4 Diskussion

4.1 Patientenkollektiv

Durch das große Patientenkollektiv, das diese Studie umfasst, sowie durch das konsekutive Einschließen der Patienten aus der klinischen Situation heraus ohne Selektion bestimmter Charakteristika sind die Ergebnisse von hoher klinisch-praktischer Repräsentativität.

Das Patientenkollektiv stimmt demographisch mit dem ähnlicher Studien überein. So haben auch Angiolillo et al. Signifikanzen gefunden im Vergleich zwischen Diabetikern und Nicht-Diabetikern mit stabiler Angina pectoris und unter dualer antithrombozytärer Therapie hinsichtlich eines höheren Alters und BMIs [5]. Im National Heart, Lung, and Blood Institute PTCA Registry fanden sich wie bei uns unter Diabetikern mit koronarer Ballonangioplastie Patienten mit signifikant höherem Alter, mit mehr Komorbiditäten und häufiger mit einer koronaren 3-Gefäß-Erkrankung [55]. Unter den Diabetikern gab es dort signifikant mehr Frauen, was sich bei uns nur tendenziell abzeichnet.

4.2 Limitationen der Studienkonzeption

Durch den retrospektiven Studiencharakter ließ sich keine lückenlose Datenerfassung erreichen, und in verschiedenen Subgruppenanalysen sind durch Auswahl und Zusammenfassen unterschiedlicher Merkmale die zu analysierenden Fallzahlen zum Teil sehr niedrig. Weitere Studien sollten die erzielten Ergebnisse untermauern.

Die Patienten haben keine einheitlichen Aufsättigungsdosen an Clopidogrel erhalten. Wie schon in Kapitel 3.2 begründet, wurde bei der Auswertung auf

eine Trennung bezüglich der Aufsättigungsdosen verzichtet, da zwischen den verschiedenen Dosisgruppen in der medianen Plättchenaggregation keine signifikanten Unterschiede gefunden worden sind. Ein ähnliches Vorgehen findet man auch bei Gurbel et al. [41]. Hierdurch liegt eine größere Nähe zur gängigen klinischen Praxis vor, in der davon ausgegangen wird, dass bei Patienten, die mit Clopidogrel vorbehandelt sind, eine Aufsättigungsdosis von 300 mg genügt, um eine Hemmung der Plättchenaggregation zu erreichen, die gleichwertig zu der erzielbaren Wirkung bei erstmaliger Gabe von 600 mg Clopidogrel ist.

Die residuelle Plättchenfunktion wurde pro Patient nur zu einem Zeitpunkt gemessen und nicht etwa im gesamten Zeitverlauf mehrmals. Betrachtungen über den Zeitverlauf beziehen sich auf Mediane von Messungen verschiedener Patienten zu unterschiedlichen Zeiten. Auch liegen keine Ausgangswerte zur Thrombozytenaggregation vor der Clopidogrel-Gabe vor, wodurch eine Bestimmung der absoluten bzw. relativen Plättchenhemmung nicht möglich ist. Samara et al. halten aber gerade die residuelle Plättchenaktivität nach Clopidogrel-Gabe für ein besseres Kriterium zur Beurteilung des thrombotischen Risikos als das Ansprechen auf Clopidogrel, gemessen als relative Plättchenhemmung [74]. Weitere Studien finden ebenso Korrelationen zwischen hoher residueller Plättchenaktivität (einmalig nach Clopidogrel-Gabe gemessen) und erhöhtem Risiko für atherothrombotische Komplikationen [24, 35, 38].

Die in dieser Studie eingeschlossenen Patienten wurden nicht auf das Langzeitergebnis und die Komplikationsrate hin untersucht. Dass Diabetiker im Allgemeinen mit einer schlechteren Prognose nach perkutanen koronaren Interventionen zu rechnen haben als Nicht-Diabetiker, ist schon lange bekannt (vergleiche Kapitel 4.4.1). Für weitere Auswertungen und Studien wäre die Fragestellung interessant, ob sich das schlechtere Ansprechen der Plättchen auf Clopidogrel von Diabetikern mit koronarer Stentimplantation mit den beschriebenen ungünstigeren kurz- und langfristigen Ergebnissen nach der Intervention korrelieren lässt.

4.3 Limitationen der Aggregometrie

4.3.1 Messbedingungen

Schon bei der Probengewinnung kommt es zu Veränderungen der natürlichen Gegebenheiten. So beeinflussen Reagenzien in den Blutentnahmeröhrchen die Plättchenaggregation [18, 56]. Zitrat zum Beispiel entzieht Kalzium, das zur Vermittlung der Plättchenaggregation benötigt wird. Zitratröhrchen zur Probengewinnung wurden jedoch in fast allen in dieser Arbeit zitierten Studien verwendet, so dass eine gute Vergleichbarkeit untereinander vorhanden ist.

Bei der Lichttransmissionsaggregometrie wird die residuelle Plättchenfunktion in plättchenreichem Plasma bestimmt. Dieses plättchenreiche Plasma ist ein künstliches Milieu, das weit von physiologischen Bedingungen entfernt ist. Scherkräfte sind minimal, die Kalziumkonzentrationen sind sehr viel niedriger und der pH-Wert ist deutlich höher als *in vivo* [18]. Die übrigen Blutbestandteile wie Erythrozyten und Leukozyten, die als kritische Modulatoren der Plättchenfunktion *in vivo* angesehen werden, fehlen [46]. Die eingesetzten ADP-Konzentrationen zum Start der Aggregation sind deutlich höher als *in vivo* und beeinflussen die Detektionsrate an Nonrespondern [68, 91].

Umstritten ist, ob die standardmäßig vorgenommene Einstellung der Thrombozytenzahl auf bestimmte Konzentrationen sinnvoll ist oder eher eine Fehlerquelle darstellt [50]. Eine neue Studie berichtet über eine Verminderung der Plättchenaggregation bei Verdünnung plättchenreichen Plasmas mit plättchenarmem, unabhängig von der Reduktion der Thrombozytenanzahl [20].

4.3.2 Reproduzierbarkeit

Die Methode der Lichttransmissionsaggregometrie ist nur eingeschränkt reproduzierbar. Yee et al. untersuchten die Reproduzierbarkeit an 27 gesunden Probanden über 4 Wochen mit Blutentnahmen zu 4 Zeitpunkten und fanden sehr gute Reproduzierbarkeit für Epinephrin als Reagenz. Die Aggregationsergebnisse für ADP 1 μM waren allerdings nicht genauso befriedigend repro-

duzierbar. Im Bereich der Non-Responder (hier definiert als eine Aggregation von über 60 %) lag kein einziger Proband bei allen 3 Messungen immer über dieser Grenze [91]. Allerdings ist ADP als Agonist unverzichtbar, wenn Clopidogrel-Effekte mithilfe der Aggregometrie untersucht werden sollen, da Clopidogrel selektiv und irreversibel die Bindung von ADP an den P2Y₁₂-Rezeptor blockiert [33].

Gurbel et al. dagegen berichten von einer guten Reproduzierbarkeit der Aggregometrie-Ergebnisse nach 4 Wochen bei 63 Patienten mit elektiver Stentimplantation [39].

4.3.3 Zusammenfassende Beurteilung

Trotz komplexer Probenaufbereitung, unphysiologischer Messbedingungen, eingeschränkter Reproduzierbarkeit und fehlender Standardisierung ist die Lichttransmissionsaggregometrie gegenwärtig die am weitesten verbreitete Messmethode, um Clopidogrel-Effekte auf Thrombozyten zu untersuchen [38]. Eine Standardisierung sollte jedoch angestrebt werden. Um Fehlerquellen zu minimieren und Vergleichbarkeit zu gewährleisten, wurden bei Probengewinnung, Probenaufbereitung und Thrombozytenaggregation einheitliche Bedingungen eingehalten und es wurde nach einem strengen Schema vorgegangen (vergleiche Kapitel 2).

Andere Methoden mit ganz unterschiedlichen Vor- und Nachteilen sind verfügbar, um Clopidogrel-Effekte zu untersuchen [38]. Welches die beste Methode ist, bleibt jedoch noch zu zeigen, da zuverlässige und reproduzierbare Aussagen über Sensitivität und Spezifität der einzelnen Methoden wie auch über die Korrelierbarkeit der einzelnen Plättchentests untereinander fehlen.

Verschiedene klinische Studien, in denen mit der Lichttransmissionsaggregometrie gearbeitet wurde, lassen einen Zusammenhang zwischen dem Ansprechen auf Clopidogrel und dem klinischen Ergebnis für die Patienten erkennen [35, 43]. Ein Monitoring des Ansprechens auf Clopidogrel wäre hilfreich, um die

Patienten eindeutiger Risikogruppen zuordnen, gezielter therapieren und das Ergebnis der Patienten verbessern zu können.

4.4 Ergebnisdiskussion

4.4.1 Einflussfaktor Diabetes

Schon lange ist bekannt, dass Diabetiker nach akuten koronaren Ereignissen eine schlechtere Prognose als Nichtdiabetiker haben [60, 61, 64]. Diabetes mellitus ist bei perkutanen koronaren Interventionen mit erhöhten Raten an klinischen Ereignissen verbunden [1, 57]. Die möglichen Erklärungen für die schlechtere Prognose von Diabetikern nach akutem Koronarsyndrom sind vielfältig und reichen von der verspäteten Arztaufsuche wegen autonomer Neuropathie mit stummem Infarkt über die erhöhte Anzahl von Komorbiditäten bis hin zu reduzierter Effektivität bestimmter medikamentöser und interventioneller Strategien.

Diabetes mellitus Typ 2 ist häufig verbunden mit anderen kardiovaskulären Risikofaktoren wie Hypertonie und Dyslipidämie, die zur chronischen Plättchenaktivierung beitragen [26, 28]. In der vorliegenden Studie fand sich jedoch bezüglich dieser Faktoren kein signifikanter Unterschied zwischen Diabetikern und Nicht-Diabetikern.

Diabetes hat offenbar einen substanziellen Einfluss auf die residuelle Plättchenaktivität, die man bei Patienten mit symptomatischer koronarer Herzkrankheit beobachtet. Diese Ergebnisse stimmen mit der aktuellen Studienlage bezüglich der Plättchenfunktion bei Diabetikern überein. Auch Angiolillo et al. beschreiben, dass Diabetiker eine erhöhte Plättchenaggregation gegenüber Nicht-Diabetikern aufweisen [5] und ihre Thrombozyten schlechter auf eine Clopidogrel-Aufsättigungsdosis von 300 mg ansprechen als die von Nicht-Diabetikern [7, 10]. Die in dieser Arbeit beschriebene Studie legt nahe, dass auch eine erhöhte Aufsättigungsdosis von 600 mg nicht ausreichend ist, um diesen Effekt bei Diabetikern mit koronarer Stentimplantation zu vermeiden.

4.4.2 Einflussfaktor akutes Koronarsyndrom

Wir fanden bei Diabetikern mit akutem Koronarsyndrom eine deutlich erhöhte residuelle Plättchenaggregation, also ein deutlich geringeres Ansprechen der Thrombozyten auf die verabreichte Clopidogrel-Aufsättigungsdosis als bei Nicht-Diabetikern mit akutem Koronarsyndrom. Bei Patienten mit stabiler Angina pectoris dagegen ergaben sich nur Tendenzen hin zu höherer residueller Thrombozytenaggregation, jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen Diabetikern und Nicht-Diabetikern. Nach Studien an einem großen Patientenkollektiv beschreiben Marso et al., dass Diabetiker mit akutem Koronarsyndrom eine deutlich schlechtere klinische Prognose haben als Diabetiker mit elektiver Stentimplantation [61].

Bezüglich der Plättchenaktivierung haben Diabetiker mit akutem Koronarsyndrom wie in unserem Kollektiv quasi eine doppelte Risikokonstellation für eine gesteigerte Plättchenaktivierung. Wie in der Einleitung beschrieben, führt Diabetes an sich zu einer Plättchenhyperaktivität; und auch das akute Koronarsyndrom ist verbunden mit einer erhöhten Plättchenaktivität. So untersuchten Gurbel et al. 192 Patienten mit koronarer Stentimplantation und Clopidogrel-Behandlung und fanden unter anderem hohe Plättchenreaktivität als Risikofaktor für ischämische Ereignisse nach perkutanen koronaren Interventionen [41]. Genauso haben Geisler et al. bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom eine signifikant erhöhte Plättchenaktivität nach der Behandlung gefunden, die mit einer schlechteren Prognose assoziiert war [35]. Die Plättchenaktivierung nach perkutanen koronaren Interventionen erlaubt es, die Patienten in Hoch- und Niedrig-Risikogruppen bezüglich späteren Herzinfarkts oder dringlicher bzw. wiederholter Revaskularisierung einzuteilen [54].

Man muss also davon ausgehen, dass Diabetiker mit akutem Koronarsyndrom eine besondere Risikogruppe für thromboembolische und ischämische Komplikationen nach Stentimplantation darstellen und dass sie von einer Optimierung der dualen antithrombozytären Therapie profitieren werden.

4.4.3 Einflussfaktor Zeit

Die mediane ADP-induzierte residuelle Plättchenaggregation lag bei uns am höchsten bei Diabetikern mit akutem Koronarsyndrom 6 bis 12 Stunden nach Gabe der Clopidogrel-Aufsättigungsdosis, verglichen mit den späteren Zeitintervallen sowie mit Nicht-Diabetikern. Bei der Bewertung dieses Ergebnisses ist zu bedenken, dass die Zahl der Diabetiker, deren Plättchenaggregation in der Frühphase bestimmt wurde, recht klein ist und dass die Thrombozytenaktivität bei jedem Diabetiker nur zu einem Zeitpunkt gemessen wurde und nicht intra-individuell in jedem Zeitraum. Dies schränkt die Aussagekraft ein; die festgestellte zeitliche Signifikanz muss an einem größeren Kollektiv bestätigt werden.

Einige Studien bestätigen eine deutlich erhöhte Plättchenaktivität um den Zeitpunkt perkutaner koronarer Interventionen herum. Angiolillo et al. [10] untersuchten bei 16 Diabetikern und 36 Nicht-Diabetikern unter dualer anti-thrombozytärer Therapie die ADP-induzierte Plättchenaggregation nach einer Aufsättigungsdosis Clopidogrel von 300 mg. Sie fanden Unterschiede bezüglich der Thrombozytenaggregation über einen Zeitraum von 24 Stunden hinaus, wohingegen wir in der vorliegenden Arbeit eine Angleichung der Werte nach 24 Stunden beobachteten, was zum Teil durch die höhere Aufsättigungsdosis erklärt werden kann. Trotzdem erreichte auch bei Angiolillo et al. die signifikanteste Erhöhung der Plättchenaggregation bei Diabetikern einen Höhepunkt nach 4 Stunden, was im selben Zeitintervall liegt, in dem auch wir signifikante Unterschiede gefunden haben.

Gawaz et al. untersuchten bei 15 Patienten mit akutem Vorderwandinfarkt die Plättchenfunktion vor der Intervention und 4, 8, 24 und 48 Stunden nach Rekanalisation der verschlossenen Arterie durch Ballonangioplastie im Vergleich zu 15 Kontrollen mit stabiler Angina pectoris und elektiver Ballonangioplastie. Etwa 8 Stunden nach der Ballonangioplastie war die Plättchenaktivität signifikant gesteigert, was sich in erhöhtem Plättchenverbrauch und der Formierung von Mikropartikeln widerspiegelte [32]. Dies bestätigt, dass das

akute Koronarsyndrom mit einer frühzeitig erhöhten Thrombozytenaktivität einhergeht.

4.4.4 Einflussfaktor metabolische Ausprägung

Bei der Kopplung von Insulin-Therapie und HbA_{1c}-Wert ergaben sich bei der Auswertung signifikante Unterschiede in der medianen Plättchenaggregation zwischen Patienten mit schwächerer und Patienten mit stärkerer metabolischer Ausprägung ihres Diabetes. Mit zunehmender metabolischer Ausprägung zeigte sich eine in der Tendenz höhere residuelle Thrombozytenaktivität unter Clopidogrel-Behandlung.

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Angiolillo et al. [5]. Sie fanden bei insulinbehandelten Diabetikern mit koronarer Herzkrankheit und dualer antithrombozytärer Therapie eine höhere ADP-induzierte Plättchenaggregation verglichen mit nicht-insulinbehandelten Diabetikern. In multivariater Analyse war die Insulinbehandlung der stärkste Prädiktor für die erhöhte ADP-induzierte Plättchenaggregation. Allerdings ergab sich bei ihnen keine Korrelation zwischen HbA_{1c}-Leveln und der Plättchenfunktion. Die Unterschiede der hier vorliegenden Studie und der Studie von Angiolillo et al. liegen darin, dass Angiolillo keine Diät-eingestellten Diabetiker eingeschlossen und die Aggregationsmessung erst einen Monat nach Beginn der dualen Therapie durchgeführt hat. In einer früheren anderen Studie mit einem kleineren Patientenkollektiv haben Angiolillo et al. [10] dagegen keine Unterschiede bei der Plättchenaggregation zwischen 17 Diabetikern mit oralen Antidiabetika und 43 Diabetikern mit Insulinbehandlung beobachtet.

Ferreira et al. [27] beobachteten, dass Insulin die Plättchenaggregation über eine Unterdrückung des P2Y₁₂-Weges in gesunden Probanden hemmt. Bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 wird dieser antithrombotische Schutz jedoch abgeschwächt, weil ihre Plättchen eine reduzierte Sensitivität auf Insulin aufweisen. Zusätzlich ist der P2Y₁₂-Weg bei Diabetikern hochreguliert. Diese Befunde könnten die erhöhte Aggregationsbereitschaft diabetischer Plättchen

erklären und gleichzeitig den größeren Nutzen gegenüber Nicht-Diabetikern bei Anwendung von P2Y₁₂-Antagonisten [16].

In der hier vorliegenden Studie wurden keine Kurz- oder Langzeitergebnisse ausgewertet. Arbeiten anderer Autoren deuten aber darauf hin, dass Insulinbehandlung und HbA_{1c}-Wert als Prädiktoren für die Prognose von Patienten nach koronarer Stentimplantation herangezogen werden können. Insulinbehandelte Diabetiker wiesen deutlich schlechtere Ergebnisse auf als Diabetiker und Nicht-Diabetiker ohne Insulinbehandlung [1, 60]. Weintraub et al. fanden Insulinbehandlung nach koronarer Stentimplantation und Bypass-Anlage mit erhöhter Langzeit-Mortalität assoziiert [86]. In der UKPD-Studie (United Kingdom Prospective Diabetes Study) ergab sich bei Diabetikern ohne koronare Stentimplantation bei einer Senkung des HbA_{1c}-Wertes um 1 % eine Verringerung des Herzinfarkttrisikos um 14 % [80].

Während Auswertungen zum BMI in der hier vorgestellten Studie bei Diabetikern nicht zu signifikanten Veränderungen in der medianen Plättchenaggregation nach 5 Minuten führten, zeigte sich der BMI in einer Studie von Angiolillo et al. in multivariater Analyse als stärkster Prädiktor von ADP-induzierter Plättchenaggregation und suboptimaler Plättchenantwort [7]. Anfossi et al. fanden Adipositas als Einflussfaktor auf die Plättchenaggregation [3].

Eine schlechtere metabolische Kontrolle ist offenbar assoziiert mit einer deutlich gesteigerten residuellen Plättchenaktivität unter dualer antithrombozytärer Therapie.

4.5 Ausblick

Obwohl Clopidogrel das Risiko von kardiovaskulären Ereignissen bei Diabetikern nach koronarer Stentimplantation senkt, tritt immer noch eine beträchtliche Anzahl an Ereignissen auf. Angiolillo et al. konnten bei Diabetikern mit suboptimalem Ansprechen auf Clopidogrel durch eine höhere Erhaltungsdosis von 150 mg die antithrombozytäre Wirkung verbessern. Trotzdem blieb eine erhöhte Plättchenaktivität bestehen [11].

So werden auf der Suche nach effektiveren P2Y₁₂-Rezeptor-Antagonisten neue Medikamente erforscht. Der P2Y₁₂-Rezeptor hat, im Gegensatz zum P2Y₁-Rezeptor, eine sehr selektive Gewebeverteilung und findet sich fast ausschließlich auf Thrombozyten und in einigen wenigen Regionen im Zentralnervensystem, was den P2Y₁₂-Rezeptor zu einer optimalen Zielstruktur für neue antithrombozytäre Substanzen macht [48]. Prasugrel und Cangrelor sind solche vielversprechenden Substanzen mit schneller anflutender Wirkung und stärkerer Hemmung der Plättchenaggregation als Clopidogrel, die sich gegenwärtig in klinischer Erprobung befinden [77]. Durch den schnelleren Wirkungseintritt könnte eine beschleunigte Plättchenhemmung in der akuten Phase des thromboischämischen Ereignisses erreicht werden. In der TRITON-TIMI 38 Studie (Trial to Assess Improvement in Therapeutic Outcomes by Optimizing Platelet Inhibition with Prasugrel–Thrombolysis in Myocardial Infarction) verglich man bei 13.608 randomisierten Patienten mit akutem Koronarsyndrom und perkutaner koronarer Intervention Prasugrel (60 mg Aufsättigungsdosis, 10 mg tägliche Erhaltungsdosis) mit Clopidogrel (300 mg Aufsättigungsdosis, 75 mg tägliche Erhaltungsdosis) über 6 bis 15 Monate. Die Behandlung mit Prasugrel war mit signifikant reduzierten Raten an ischämischen Ereignissen, einschließlich Stentthrombose, assoziiert, gleichzeitig aber auch mit einem erhöhten Blutungsrisiko in bestimmten Subgruppen verbunden (ältere Patienten, Patienten mit vorhergehenden zerebrovaskulären Ereignissen) [90].

In einer Subgruppenanalyse der TRITON-TIMI 38 Studie wurde der Nutzen von Prasugrel gegenüber Clopidogrel zwischen den 3.146 Diabetikern und den 10.462 Nicht-Diabetikern verglichen [89]. Wiviott et al. kamen zu dem Ergebnis, dass Diabetiker in einem höheren Maß von einer alternativen Behandlung mit Prasugrel profitieren als Nicht-Diabetiker, während gleichzeitig das Blutungsrisiko für Diabetiker nicht erhöht ist. Sie beobachteten unter anderem eine deutlich stärkere Verringerung ischämischer Ereignisse bei Diabetikern im Vergleich zu Nicht-Diabetikern, und zwar gleichermaßen bei Diabetikern mit wie auch ohne Insulin-Behandlung.

Darüber hinaus spielen auch noch andere Agonisten und Faktoren als ADP eine wichtige Rolle in der Entstehung ischämischer Ereignisse, zum Beispiel Plättchen-Fibrin-Interaktionen, die Kinetik der Thrombenbildung und die Festigkeit des Thrombus, so dass auch neuere P2Y₁₂-Inhibitoren nicht ausreichend sein könnten, um thromboembolische Ereignisse zu vermeiden [41].

5 Zusammenfassung

Bei Diabetikern beobachtet man neben Plättchenfunktionsstörungen, die eine wichtige Rolle bei der Entwicklung atherothrombotischer Komplikationen nach koronarer Stentimplantation spielen, ein vermindertes Ansprechen der Blutplättchen auf antithrombozytäre Substanzen, das mit einer ungünstigeren Prognose assoziiert ist. An einem größeren Patientenkollektiv sollte untersucht werden, welche Einflussfaktoren bei Typ-2-Diabetikern mit koronarer Stentimplantation zu einer erhöhten residuellen Plättchenaktivität beitragen.

Die residuelle Plättchenaktivität wurde mittels ADP-induzierter Lichttransmissionsaggregometrie bestimmt und von 485 Patienten mit koronarer Stentimplantation unter dualer antithrombozytärer Therapie nach einer Aufsättigungsdosis Clopidogrel retrospektiv ausgewertet.

Die 161 Diabetiker wiesen eine höhere residuelle Plättchenaktivität auf als die 324 Nicht-Diabetiker (40,0 % gegenüber 31,8 %, $p < 0,01$). Besonders ausgeprägt waren diese Unterschiede bei Diabetikern mit akutem Koronarsyndrom gegenüber Nicht-Diabetikern mit akutem Koronarsyndrom (46,3 % gegenüber 35,8 %, $p = 0,002$). Die residuelle Plättchenaktivität war am höchsten bei Diabetikern mit akutem Koronarsyndrom 6 bis 12 Stunden nach Gabe der Aufsättigungsdosis. Ebenfalls signifikant erhöht zeigte sich die residuelle Plättchenaktivität bei Diabetikern unter Insulin-Therapie verglichen mit Diabetikern ohne Insulinbehandlung (46,3 % gegenüber 32,5%, $p = 0,028$) und bei Diabetikern mit einem $HbA_{1c} > 6,8$ % gegenüber Diabetikern mit niedrigerem HbA_{1c} (44,6 % gegenüber 35,0 %, $p = 0,02$).

Diabetiker mit akutem Koronarsyndrom und schlechter metabolischer Kontrolle stellen eine besondere Risikogruppe für eine ineffektive periinterventionelle

Thrombozytenhemmung trotz dualer antithrombozytärer Therapie dar. Dies könnte wesentlich zu einer erhöhten Gefährdung durch thromboischämische Ereignisse nach Stentimplantation beitragen. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit legen nahe, dass sowohl eine Anpassung der antithrombozytären Therapie, gesteuert durch thrombozytenfunktionsanalytische Verfahren, als auch eine Verbesserung der diabetischen Stoffwechsellage zu einer optimierten Thrombozytenhemmung und damit zur Reduktion thromboischämischer Komplikationen bei Typ-2-Diabetikern beitragen können.

A Literaturverzeichnis

-
- [1] Abizaid A, Kornowski R, Mintz GS, Hong MK, Abizaid AS, Mehran R, Pichard AD, Kent KM, Satler LF, Wu H, Popma JJ, Leon MB. The influence of diabetes mellitus on acute and late clinical outcomes following coronary stent implantation. *J Am Coll Cardiol* 1998;32:584-589.
 - [2] American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2008;31:Suppl 55-60.
 - [3] Anfossi G, Mularoni EM, Burzacca S, Ponziani MC, Massucco P, Mattiello L, Cavalot F, Trovati M. Platelet resistance to nitrates in obesity and obese NIDDM, and normal platelet sensitivity to both insulin and nitrates in lean NIDDM. *Diabetes Care* 1998;21:121-126.
 - [4] Anfossi G, Trovati M. Pathophysiology of platelet resistance to anti-aggregating agents in insulin resistance and type 2 diabetes: implications for anti-aggregating therapy. *Cardiovasc Hematol Agents in Med Chem* 2006;4:111-128. Review.
 - [5] Angiolillo DJ, Bernardo E, Ramírez C, Costa MA, Sabaté M, Jimenez-Quevedo P, Hernández R, Moreno R, Escaned J, Alfonso F, Bañuelos C, Bass TA, Macaya C, Fernández-Ortiz A. Insulin therapy is associated with platelet dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus on dual oral antiplatelet treatment. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:298-304.
 - [6] Angiolillo DJ, Bernardo E, Sabaté M, Jimenez-Quevedo P, Costa MA, Palazuelos J, Hernández-Antolin R, Moreno R, Escaned J, Alfonso F, Bañuelos C, Guzman LA, Bass TA, Macaya C, Fernandez-Ortiz A. Impact of platelet reactivity on cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:1541-1547.
 - [7] Angiolillo DJ, Fernández-Ortiz A, Bernardo E, Barrera Ramírez C, Sabaté M, Fernandez C, Hernández-Antolin R, Escaned J, Alfonso F, Macaya C. Platelet aggregation according to body mass index in patients undergoing coronary stenting: should clopidogrel loading-dose be weight adjusted? *J Invasive Cardiol* 2004;16:169-174.
 - [8] Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Ramírez C, Sabaté M, Jimenez-Quevedo P, Hernández R, Moreno R, Escaned J, Alfonso F, Bañuelos C, Costa MA, Bass T, Macaya C. Clopidogrel withdrawal is associated with proinflammatory and prothrombotic effects in patients with diabetes and coronary artery disease. *Diabetes* 2006;55:780-784.
 - [9] Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Ramírez C, Sabaté M, Jimenez-Quevedo P, Hernández R, Moreno R, Escaned J, Alfonso F, Bañuelos C, Costa MA, Bass TA, Macaya C. Influence of aspirin resistance on platelet function profiles in patients on long-term aspirin and clopidogrel after percutaneous coronary intervention. *Am J Cardiol* 2006;97:38-43.

-
- [10] Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Ramírez C, Sabaté M, Jimenez-Quevedo P, Hernández R, Moreno R, Escaned J, Alfonso F, Bañuelos C, Costa MA, Bass TA, Macaya C. Platelet function profiles in patients with type 2 diabetes and coronary artery disease on combined aspirin and clopidogrel treatment. *Diabetes* 2005;54:2430-2435.
- [11] Angiolillo DJ, Shoemaker SB, Desai B, Yuan H, Charlton RK, Bernardo E, Zenni MM, Guzman LA, Bass TA, Costa MA. Randomized comparison of a high clopidogrel maintenance dose in patients with diabetes mellitus and coronary artery disease: results of the optimizing antiplatelet therapy in diabetes mellitus (OPTIMUS) study. *Circulation* 2007;115:708-716.
- [12] Antithrombotic Trialists' Collaboration. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ* 2002;324:71-86.
- [13] Aronson D, Bloomgarden Z, Rayfield EJ. Potential mechanisms promoting restenosis in diabetic patients. *J Am Coll Cardiol* 1996;27:528-538. Review.
- [14] Bertrand ME, Rupprecht HJ, Urban P, Gershlick AH for the CLASSICS Investigators. Double-blind study of the safety of clopidogrel with and without a loading dose in combination with aspirin compared with ticlopidine in combination with aspirin after coronary stenting: The clopidogrel aspirin stent interventional cooperative study (CLASSICS). *Circulation* 2000;102:624-629.
- [15] Bhatt DL, Fox KA, Hacke W, Berger PB, Black HR, Boden WE, Cacoub P, Cohen EA, Creager MA, Easton JD, Flather MD, Haffner SM, Hamm CW, Hankey GJ, Johnston SC, Mak KH, Mas JL, Montalescot G, Pearson TA, Steg PG, Steinhubl SR, Weber MA, Brennan DM, Fabry-Ribaudo L, Booth J, Topol EJ: CHARISMA Investigators. Clopidogrel and aspirin versus aspirin alone for the prevention of atherothrombotic events. *N Engl J Med* 2006;354:1706-1717.
- [16] Bhatt DL, Marso SP, Hirsch AT, Ringleb PA, Hacke W, Topol EJ. Amplified benefit of clopidogrel versus aspirin in patients with diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 2002;90:625-628.
- [17] Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001;414:813-820. Review.
- [18] Budde U. Diagnose von Funktionsstörungen der Thrombozyten mit Hilfe der Aggregometrie. Diagnosis of platelet function defects with platelet aggregometers. *J Lab Med* 2002;26:564-571.
- [19] Calles-Escandon J, Mirza SA, Sobel BE, Schneider DJ. Induction of hyperinsulinemia combined with hyperglycemia and hypertriglyceridemia increases plasminogen activator inhibitor 1 in blood in normal human subjects. *Diabetes* 1998;47:290-293.

-
- [20] Cattaneo M, Lecchi A, Zighetti ML, Lussana F. Platelet aggregation studies: autologous platelet poor plasma inhibits platelet aggregation when added to platelet rich plasma to normalize platelet count. *Haematologica* 2007;92:694-697.
- [21] Chen ZM, Jiang LX, Chen YP, Xie JX, Pan HC, Peto R, Collins R, Liu LS, COMMIT (CLOpidogrel and Metoprolol in Myocardial Infarction Trial) collaborative group. Addition of clopidogrel to aspirin in 45,852 patients with acute myocardial infarction: randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2005;366:1607-1621.
- [22] Chew DP, Bhatt DL, Sapp S, Topol EJ. Increased mortality with oral platelet glycoprotein IIb/IIIa antagonists: a meta-analysis of phase III multicenter randomized trials. *Circulation* 2001;103:201-206.
- [23] Collaborative overview of randomised trials of antiplatelet therapy-II: Maintenance of vascular graft or arterial patency by antiplatelet therapy. Antiplatelet Trialists' Collaboration. *BMJ* 1994;308:159-168.
- [24] Cuisset T, Frere C, Quilici J, Morange PE, Nait-Saidi L, Mielot C, Bali L, Lambert M, Alessi MC, Bonnet JL. High post-treatment platelet reactivity is associated with a high incidence of myonecrosis after stenting for non-ST elevation acute coronary syndromes. *Thromb Haemost* 2007;97:282-287.
- [25] Davì G, Catalano I, Averna M, Notarbartolo A, Strano A, Ciabattoni G, Patrono C. Thromboxane biosynthesis and platelet function in type II diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1990;322:1769-1774.
- [26] Davì G, Gresele P, Violi F, Basili S, Catalano M, Giammarresi C, Volpato R, Nenci GG, Ciabattoni G, Patrono C. Diabetes mellitus, hypercholesterolemia, and hypertension but not vascular disease per se are associated with persistent platelet activation in vivo. Evidence derived from the study of peripheral arterial disease. *Circulation* 1997;96:69-75.
- [27] Ferreira IA, Mocking AI, Feijge MA, Gorter G, van Haeften TW, Heemskerk JW, Akkerman JW. Platelet inhibition by insulin is absent in type 2 diabetes mellitus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:417-422.
- [28] Ferroni P, Basili S, Falco A, Davi G. Platelet activation in type 2 diabetes mellitus. *J Thromb Haemost* 2004;2:1282-1291. Review.
- [29] Festa A, D'Agostino R Jr, Mykkänen L, Tracy RP, Zaccaro DJ, Hales CN, Haffner SM. Relative contribution of insulin and its precursors to fibrinogen and PAI-1 in a large population with different states of glucose tolerance: the insulin resistance atherosclerosis study (IRAS). *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:562-568.
- [30] Gawaz M. Das Blutplättchen: Physiologie, Pathophysiologie, Membranrezeptoren, antithrombozytäre Wirkstoffe und Therapie bei

- koronarer Herzerkrankung. Stuttgart, Thieme 1999;9-15,21-23,43-46,89-108.
- [31] Gawaz M, Neumann FJ, Dickfeld T, Koch W, Laugwitz KL, Adelsberger H, Langenbrink K, Page S, Neumeier D, Schömig A, Brand K. Activated platelets induce monocyte chemotactic protein-1 secretion and surface expression of intercellular adhesion molecule-1 on endothelial cells. *Circulation* 1998;98:1164-1171.
- [32] Gawaz M, Neumann FJ, Ott I, Schiessler A, Schömig A. Platelet function in acute myocardial infarction treated with direct angioplasty. *Circulation* 1996;93:229-237.
- [33] Geiger J, Brich J, Hönig-Liedl P, Eigenthaler M, Schanzenbächer P, Herbert JM, Walter U. Specific impairment of human platelet P2Y₁₂ ADP receptor-mediated signaling by the antiplatelet drug clopidogrel. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:2007-2011.
- [34] Geisler T, Grass D, Bigalke B, Stellos K, Drosch T, Dietz K, Herdeg C, Gawaz M. The residual platelet aggregation after deployment of intracoronary stent (PREDICT) score. *J Thromb Haemost* 2008;6:54-61.
- [35] Geisler T, Langer H, Wydymus M, Gohring K, Zuern C, Bigalke B, Stellos K, May AE, Gawaz M. Low response to clopidogrel is associated with cardiovascular outcome after coronary stent implantation. *Eur Heart J* 2006;27:2420-2425.
- [36] Giusti B, Gori AM, Marcucci R, Saracini C, Sestini I, Paniccchia R, Valente S, Antonucci D, Abbate R, Gensini GF. Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism, but not CYP 3A4 IVS10 + 12G/A and P2Y₁₂ T744C polymorphisms, is associated with response variability to dual antiplatelet treatment in high-risk vascular patients. *Pharmacogenet Genomics* 2007;17:1057-1064.
- [37] Gum PA, Kottke-Marchant K, Welsh PA, White J, Topol EJ. A prospective, blinded determination of the natural history of aspirin resistance among stable patients with cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:961-965.
- [38] Gurbel PA, Becker RC, Mann KG, Steinhubl SR, Michelson AD. Platelet function monitoring in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:1822-1834. Review.
- [39] Gurbel PA, Bliden KP. Durability of platelet inhibition by clopidogrel. *Am J Cardiol* 2003;91:1123-1125.
- [40] Gurbel PA, Bliden KP, DiChiara J, Newcomer J, Weng W, Neerchal NK, Gesheff T, Chaganti SK, Etherington A, Tantry US. Evaluation of dose-related effects of aspirin on platelet function: results from the Aspirin-Induced Platelet Effect (ASPECT) study. *Circulation* 2007;115:3156-3164.

-
- [41] Gurbel PA, Bliden KP, Guyer K, Cho PW, Zaman KA, Kreutz RP, Bassi AK, Tantry US. Platelet reactivity in patients and recurrent events post-stenting: results of the PREPARE POST-STENTING Study. *J Am Coll Cardiol* 2005;46:1820-1826.
- [42] Gurbel PA, Bliden KP, Hiatt BL, O'Connor CM. Clopidogrel for coronary stenting: response variability, drug resistance, and the effect of pretreatment platelet reactivity. *Circulation* 2003;107:2908-2913.
- [43] Gurbel PA, Bliden KP, Samara W, Yoho JA, Hayes K, Fissaha MZ, Tantry US. Clopidogrel effect on platelet REactivity in patients with Stent Thrombosis (Results of the CREST study). *J Am Coll Cardiol* 2005;46:1827-1832.
- [44] Harpaz D, Gottlieb S, Graff E, Boyko V, Kishon Y, Behar S. Effects of aspirin treatment on survival in non-insulin-dependent diabetic patients with coronary artery disease. Israeli Bezafibrate Infarction Prevention Study Group. *Am J Med* 1998;105:494-499.
- [45] Hekimsoy Z, Payzin B, Örnek T, Kandoğan G. Mean platelet volume in type 2 diabetic patients. *J Diabetes Complications* 2004;18:173-176.
- [46] Heptinstall S, Johnson A, Glenn JR, White AE. Adenine nucleotide metabolism in human blood – important roles for leukocytes and erythrocytes. *J Thromb Haemost* 2005;3:2331-2339.
- [47] Hochholzer W, Trenk D, Frundi D, Blanke P, Fischer B, Andris K, Bestehorn HP, Büttner HJ, Neumann FJ. Time dependence of platelet inhibition after a 600-mg loading dose of clopidogrel in a large, unselected cohort of candidates for percutaneous coronary intervention. *Circulation* 2005;111:2560-2564.
- [48] Hollopeter G, Jantzen HM, Vincent D, Li G, England L, Ramakrishnan V, Yang RB, Nurden P, Nurden A, Julius D, Conley PB. Identification of the platelet ADP receptor targeted by antithrombotic drugs. *Nature* 2001;409:202-207.
- [49] Hu H, Hjemdahl P, Li N. Effects of insulin on platelet and leukocyte activity in whole blood. *Thromb Res* 2002;107:209-215.
- [50] Hutton RA, Ludlam CA. ACP Broadsheet 122: August 1989. Platelet functioning testing. *J Clin Pathol* 1989;42:858-864.
- [51] Inoguchi T, Li P, Umeda F, Yu HY, Kakimoto M, Imamura M, Aoki T, Etoh T, Hashimoto T, Naruse M, Sano H, Utsumi H, Nawata H. High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C-dependant activation of NAD(P)H oxidase in cultured vascular cells. *Diabetes* 2000;49:1939-1945.
- [52] Inoue T, Sohma R, Miyazaki T, Iwasaki Y, Yaguchi I, Morooka S. Comparison of activation process of platelets and neutrophils after

- coronary stent implantation versus balloon angioplasty for stable angina pectoris. *Am J Cardiol* 2000;86:1057-1062.
- [53] Jin J, Daniel JL, Kunapuli SP. Molecular basis for ADP-induced platelet activation. II. The P2Y1 receptor mediates ADP-induced intracellular calcium mobilization and shape change in platelets. *J Biol Chem* 1998;273:2030-2034.
- [54] Kabbani SS, Watkins MW, Ashikaga T, Terrien EF, Holoch PA, Sobel BE, Schneider DJ. Platelet reactivity characterized prospectively: a determinant of outcome 90 days after percutaneous coronary intervention. *Circulation* 2001;104:181-186.
- [55] Kip KE, Faxon DP, Detre KM, Yeh W, Kelsey SF, Currier JW. Coronary angioplasty in diabetic patients: the National Heart, Lung, and Blood Institute Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty Registry. *Circulation* 1996;94:1818-1825.
- [56] Labarthe B, Théroux P, Angioï M, Ghitescu M. Matching the evaluation of the clinical efficacy of clopidogrel to platelet function tests relevant to the biological properties of the drug. *J Am Coll Cardiol* 2005;46:638-645.
- [57] Laskey WK, Selzer F, Vlachos HA, Johnston J, Jacobs A, King SB 3rd, Holmes DR, Douglas J, Block P, Wilensky R, Williams DO, Detre K, Dynamic Registry Investigators. Comparison of in-hospital and one-year outcomes in patients with and without diabetes mellitus undergoing percutaneous catheter intervention (from the National Heart, Lung, and Blood Institute Dynamic Registry). *Am J Cardiol* 2002;90:1062-1067.
- [58] Lordkipanidzé M, Pharand C, Schampaert E, Turgeon J, Palisaitis DA, Diodati JG. 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* 2007;28:1702-1708.
- [59] Lotrionte M, Biondi-Zocchai GG, Agostoni P, Abbate A, Angiolillo DJ, Valgimigli M, Moretti C, Meliga E, Cuisset T, Alessi MC, Montalescot G, Collet JP, Di Sciascio D, Waksman R, Testa L, Sangiorgi G, Laudito A, Trevisani GP, Sheiban I. Meta-analysis appraising high clopidogrel loading in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *Am J Cardiol* 2007;100:1199-1206. Review.
- [60] Mak KH, Moliterno DJ, Granger CB, Miller DP, White HD, Wilcox RG, Califf RM, Topol EJ. Influence of diabetes mellitus on clinical outcome in the thrombolytic era of acute myocardial infarction. GUSTO-I Investigators. Global Utilization of Streptokinase and Tissue Plasminogen Activator for Occluded Coronary Arteries. *J Am Coll Cardiol* 1997;30:171-179.
- [61] Marso SP, Giorgi LV, Johnson WL, Huber KC, Laster SB, Shelton CJ, McCallister BD, Coen MM, Rutherford BD. Diabetes mellitus is associated with a shift in the temporal risk profile of inhospital death after

- percutaneous coronary intervention: an analysis of 25,223 patients over 20 years. *Am Heart J* 2003;145:270-277.
- [62] Marso SP, Lincoff AM, Ellis SG, Bhatt DL, Tanguay JF, Kleiman NS, Hammoud T, Booth JE, Sapp SK, Topol EJ. Optimizing the percutaneous interventional outcome for patients with diabetes mellitus: results of the EPISTENT (Evaluation of Platelet IIb/IIIa Inhibitor for STENTing trial) diabetic substudy. *Circulation* 1999;100:2477-2484.
- [63] Massberg S, Schulz C, Gawaz M. Role of platelets in the pathophysiology of acute coronary syndrome. *Semin Vasc Med* 2003;3:147-162. Review.
- [64] McGuire DK, Emanuelsson H, Granger CB, Magnus Ohman E, Moliterno DJ, White HD, Ardissino D, Box JW, Califf RM, Topol EJ. Influence of diabetes mellitus on clinical outcomes across the spectrum of acute coronary syndromes. Findings from the GUSTO-IIb study. GUSTO IIb Investigators. *Eur Heart J* 2000;21:1750-1758.
- [65] Mehilli J, Kastrati A, Schühlen H, Dibra A, Dotzer F, von Beckerath N, Bollwein H, Pache J, Dirschinger J, Berger PP, Schömig A; Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen: Is Abciximab a Superior Way to Eliminate Elevated Thrombotic Risk in Diabetes (ISAR-SWEET) Study Investigators. Randomized clinical trial of abciximab in diabetic patients undergoing elective percutaneous coronary interventions after treatment with a high loading dose of clopidogrel. *Circulation* 2004;110:3627-3635.
- [66] Mehta SR, Yusuf S, Peters RJ, Bertrand ME, Lewis BS, Natarajan MK, Malmberg K, Rupprecht H, Zhao F, Chrolavicius S, Copland I, Fox KA; Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent Events trial (CURE) Investigators. Effects of pretreatment with clopidogrel and aspirin followed by long-term therapy in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the PCI-CURE study. *Lancet* 2001;358:527-533.
- [67] Mori TA, Vandongen R, Douglas AJ, McCulloch RK, Burke V. Differential effect of aspirin on platelet aggregation in IDDM. *Diabetes* 1992;41:261-266.
- [68] Müller I, Besta F, Schulz C, Massberg S, Schömig A, Gawaz M. Prevalence of clopidogrel non-responders among patients with stable angina pectoris scheduled for elective coronary stent placement. *Thromb Haemost* 2003;89:783-787.
- [69] Müller I, Seyfarth M, Rüdiger S, Wolf B, Pogatsa-Murray G, Schömig A, Gawaz M. Effect of a high loading dose of clopidogrel on platelet function in patients undergoing coronary stent placement. *Heart* 2001;85:92-93.
- [70] Murugappan S, Kunapuli SP. The role of ADP receptors in platelet function. *Front in Biosci* 2006;11:1977-1986. Review.
- [71] Patti G, Colonna G, Pasceri V, Pepe LL, Montinaro A, Di Sciascio G. Randomized trial of high loading dose of clopidogrel for reduction of

- periprocedural myocardial infarction in patients undergoing coronary intervention: results from the ARMYDA-2 (Antiplatelet therapy for Reduction of MYocardial Damage during Angioplasty) study. *Circulation* 2005;111:2099-2106.
- [72] Roffi M, Chew DP, Mukherjee D, Bhatt DL, White JA, Heeschen C, Hamm CW, Moliterno DJ, Califf RM, White HD, Kleiman NS, Théroux P, Topol EJ. Platelet glycoprotein IIb/IIIa inhibitors reduce mortality in diabetic patients with non-ST-segment-elevation acute coronary syndromes. *Circulation* 2001;104:767-2771.
- [73] Ross R. Atherosclerosis - an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-126. Review.
- [74] Samara WM, Bliden KP, Tantry US, Gurbel PA. The difference between clopidogrel responsiveness and posttreatment platelet reactivity. *Thromb Res* 2005;115:89-94.
- [75] Serebruany VL, Malinin AI, Pokov A, Barsness G, Hanley DF. Effects of clopidogrel and aspirin in combination versus aspirin alone on platelet activation and major receptor expression in diabetic patients: the PLavix Use for Treatment Of Diabetes (PLUTO-Diabetes) trial. *Am Heart J* 2008;155:93.e1-93.e7.
- [76] Serebruany VL, Steinhubl SR, Berger PB, Malinin AI, Bhatt DL, Topol EJ. Variability in platelet responsiveness to clopidogrel among 544 individuals. *J Am Coll Cardiol* 2005;45:246-251.
- [77] Steinhubl S, Roe MT. Optimizing platelet P2Y₁₂ inhibition for patients undergoing PCI. *Cardiovasc Drug Rev* 2007;25:188-203. Review.
- [78] Storey RF; Judge HM, Wilcox RG, Heptinstall S. Inhibition of ADP-induced P-selectin expression and platelet-leukocyte conjugate formation by clopidogrel and the P2Y₁₂ receptor antagonist AR-C69931MX but not aspirin. *Thromb Haemost* 2002;88:488-494.
- [79] Storey RF, Sanderson HM, White AE, May JA, Cameron KE, Heptinstall S. The central role of the P2T receptor in amplification of human platelet activation, aggregation, secretion and procoagulant activity. *Br J Haematol* 2000;110:925-934.
- [80] Stratton IM, Adler AI, Neil HA, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, Hadden D, Turner RC, Holman RR. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ* 2000;321:405-412.
- [81] Tschöepe D, Roesen P, Esser J, Schwippert B, Nieuwenhuis HK, Kehrel B, Gries FA. Large platelets circulate in an activated state in diabetes mellitus. *Semin Thromb Hemost* 1991;17:433-438.

-
- [82] Tschoepe D, Roesen P, Kaufmann L, Schauseil S, Kehrel B, Ostermann H, Gries FA. Evidence for abnormal platelet glycoprotein expression in diabetes mellitus. *Eur J Clin Invest* 1990;20:166-170.
- [83] Udvardy M, Pfliegler G, Rak K. Platelet insulin receptor determination in non-insulin dependant diabetes mellitus. *Experientia* 1985;41:422-423.
- [84] Véricel E, Januel C, Carreras M, Moulin P, Lagarde M. Diabetic patients without vascular complications display enhanced basal platelet activation and decreased antioxidant status. *Diabetes* 2004;53:1046-1051.
- [85] Watala C. Blood platelet reactivity and its pharmacological modulation in (people with) diabetes mellitus. *Current Pharm Des* 2005;11:2331-2365. Review.
- [86] Weintraub WS, Stein B, Kosinski A, Douglas JS Jr, Ghazzal ZM, Jones EL, Morris DC, Guyton RA, Craver JM, King SB 3rd. Outcome of coronary bypass surgery versus coronary angioplasty in diabetic patients with multivessel coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 1998;31:10-19.
- [87] Weiss D, Sorescu D, Taylor WR. Angiotensin II and atherosclerosis. *Am J Cardiol* 2001;87:25C-32C. Review.
- [88] Winocour PD, Watala C, Perry DW, Kinlough-Rathbone RL. Decreased platelet membrane fluidity due to glycation or acetylation of membrane proteins. *Thromb Haemost* 1992;68:577-582.
- [89] Wiviott SD, Braunwald E, Angiolillo DJ, Meisel S, Dalby AJ, Verheugt FW, Goodman SG, Corbalan R, Purdy DA, Murphy SA, McCabe CH, Antman EM; TRITON-TIMI 38 Investigators. Greater clinical benefit of more intensive oral antiplatelet therapy with prasugrel in patients with diabetes mellitus in the trial to assess improvement in therapeutic outcomes by optimizing platelet inhibition with prasugrel thrombolysis in myocardial infarction 38. *Circulation* 2008;118:1626-1636.
- [90] Wiviott SD, Braunwald E, McCabe CH, Montalescot G, Ruzyllo W, Gottlieb S, Neumann FJ, Ardissino D, De Servi S, Murphy SA, Riesmeyer J, Weerakkody G, Gibson CM, Antman EM; TRITON-TIMI 38 Investigators. Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2007;357:2001-2015.
- [91] Yee D, Sun CW, Bergeron AL, Dong J, Bray PF. Aggregometry detects platelet hyperreactivity in healthy individuals. *Blood* 2005;106:2723-2729.
- [92] Yngen M, Li N, Hjemdahl P, Wallén NH. Insulin enhances platelet activation in vitro. *Thromb Res* 2001;104:85-91.
- [93] Yusuf S, Zhao F, Mehta SR, Chrolavicius S, Tognoni G, Fox KK; Clopidogrel in unstable angina to prevent recurrent events trial investigators. Effects of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation. *N Engl J Med* 2001;345:494-502.

B Veröffentlichungen und Vorträge

Teile der vorliegenden Arbeit wurden veröffentlicht:

1. Geisler T, Anders N, Paterok M, Langer H, Stellos K, Lindemann S, Herdeg C, May AE, Gawaz M. Platelet response to clopidogrel is attenuated in diabetic patients undergoing coronary stent implantation. *Diabetes Care*, 2007;30:372-374.
2. Geisler T, Anders N, Paterok M, Langer H, Stellos K, Lindemann S, Herdeg C, May AE, Gawaz M. Clopidogrel-dependent platelet inhibition is attenuated in diabetic patients undergoing coronary stent-implantation. 51. Jahrestagung der Gesellschaft für Thrombose- und Hämostaseforschung, Dresden, Februar 2007.

C Patienteninformation und Einverständniserklärung

III. Medizinische Klinik

Universitätsklinikum Tübingen

(Direktor: Prof. Dr. Meinrad Gawaz)

Otfried-Müller-Str. 10

72076 Tübingen

Dr. Tobias Geisler 07071-29-84482

Piepser 151-8835

Patienteninformation

zur Studie

**BEDEUTUNG EINER CLOPIDOGRELRESISTENZ FÜR DIE PROGNOSE BEI
PATIENTEN MIT STENTIMPLANTATION UND BEI AKUTEM
KORONARSYNDROM**

Sehr geehrte Frau, sehr geehrter Herr _____ ,

bei Ihnen liegt eine koronare Herzkrankheit vor. Dabei handelt es sich um arteriosklerotische Verengungen mit Gerinnselbildung in einem oder mehreren Herzkranzgefäßen, welche unter körperlicher Belastung oder sogar in Ruhe zu Durchblutungsstörungen und damit zu Brustschmerzen führen. Behandlungsziel ist die Beseitigung der Engstelle, um eine adäquate Durchblutung des Herzmuskels zu gewährleisten.

Hierzu wird bei Ihnen im Rahmen einer Herzkatheteruntersuchung mittels einer Ballondilatation die Engstelle aufgeweitet und anschließend eine Gefäßstütze (Stent) eingebracht.

Um ein gutes Ergebnis und eine niedrige Komplikationsrate zu gewährleisten, müssen vor, während und nach dem Eingriff Medikamente, die die Verklebung von Blutplättchen hemmen, verabreicht werden.

Obligat ist dafür ein Medikament mit dem Namen Clopidogrel (Iscover® oder Plavix®), das in Tablettenform vor (600 mg 1 malig) und bis sechs Monate nach dem Eingriff (75 mg 1 mal täglich) eingenommen werden muss und vor einem akuten Verschluss durch Plättchenverklebung im Stentbereich schützt. Weiterhin erhalten Sie ASS (100-200 mg/Tag), das ebenfalls die Funktion der Blutplättchen hemmt.

Welche Untersuchungen werden durchgeführt?

Anhand von einer venösen Blutentnahme (10 ml) nach der Einnahme von Clopidogrel und ASS wird die Wirksamkeit dieser Medikamente gegen eine Plättchenverklebung durch eine labortechnische Untersuchung (Aggregometrie, in vitro Blutungszeit, Durchflusszytometrie) überprüft.

Nach 3 und 6 Monaten werden Sie von einem der teilnehmenden Studienärzte telefonisch kontaktiert, um Informationen über Ihre gesundheitliche Verfassung einzuholen.

Hat die Teilnahme an der Studie Vorteile oder Nachteile für mich?

Die Teilnahme an der Studie hat keine Nachteile für Sie. Die im Rahmen der Studie untersuchte Medikation ist ein bewährtes und in großen klinischen Studien getestetes Behandlungsregime. Durch die Teilnahme an der Studie ändert sich an dieser Medikation für Sie nichts. Es soll lediglich untersucht werden, ob Sie auf Clopidogrel ansprechen, was eine wichtige Erkenntnis für den weiteren Verlauf bei Durchblutungsstörungen des Herzens darstellt. Insgesamt soll eine Risikogruppe von Patienten identifiziert werden, die auf dieses Medikament nicht ansprechen. Es soll untersucht werden, wie sich bei diesen Patienten der klinische Verlauf zeigt.

Neben der durchgeführten Blutentnahme werden natürlich unabhängig davon alle weiteren notwendigen diagnostischen Routineblutabnahmen durchgeführt.

Sollte sich durch die Studie zeigen, dass eine klinische Verschlechterung bei Patienten zu erwarten ist, bei denen ein Nichtansprechen auf die Medikamente ASS und Clopidogrel vorhanden ist, würden Sie folgendermaßen von der Studie profitieren: Wenn ein gutes Ansprechen auf die Medikamente diagnostiziert wird, wissen Sie dass Sie gut gegen ein Verkleben der Blutplättchen geschützt sind. Wenn bei Ihnen ein Nichtansprechen diagnostiziert wird, kann gegebenenfalls eine mögliche andere Therapieoption diskutiert werden.

Die Teilnahme an dieser Studie ist freiwillig. Ein Rücktritt von der Studie ist jederzeit ohne Angabe von Gründen möglich, ohne dass Ihnen daraus Nachteile für Ihre weitere ärztliche Behandlung erwachsen.

Werden meine Daten vertraulich behandelt?

Ja. Ihnen wird zugesichert, dass Ihre personenbezogenen Daten stets absolut vertraulich behandelt und nicht in die Öffentlichkeit gelangen werden. Neben der normalen Speicherung der Daten in der Krankenakte werden für diese Studie wichtige Daten (z. B. kardiovaskuläre Risikofaktoren) in einen sogenannten pseudonymisierten Fragebogen überführt. Das heißt, dieser Fragebogen enthält nicht Ihren Namen, sondern lediglich eine Kennziffer, so dass gegebenenfalls weitere notwendige Informationen aus Ihrer Krankenakte entnommen werden können. Die Kennziffern mit entsprechenden Namen werden in einer Liste geführt. Zu dieser Liste haben lediglich die an dieser Studie teilnehmenden Prüfungsärzte Zugang. Die Daten aus den Fragebögen werden in einen PC in unserem Labor eingegeben, zu dem ebenfalls lediglich die Prüfungsärzte Zugang haben. Zur statistischen Auswertung können die erhobenen Daten nicht mit Namen, sondern nur in pseudonymisierter Form an das Institut für medizinische Biometrie des Universitätsklinikums Tübingen zur wissenschaftlichen Auswertung weitergeleitet werden. Diese Personen unterliegen der Schweigepflicht.

III. Medizinische Klinik

Universitätsklinikum Tübingen

(Direktor: Prof. Dr. Meinrad Gawaz)

Otfried-Müller-Str. 10

72076 Tübingen

Dr. Tobias Geisler 07071-29-84482

Piepser 151-8835

Einverständniserklärung

zur Studie

**BEDEUTUNG EINER CLOPIDOGRELRESISTENZ FÜR DIE PROGNOSE BEI
PATIENTEN MIT STENTIMPLANTATION UND BEI AKUTEM
KORONARSYNDROM**

Ich habe das vorstehende Merkblatt aufmerksam gelesen. Ich habe keine weiteren Fragen mehr. Ich wurde von meinem Arzt über Wesen, Bedeutung, Tragweite sowie über die mit der Teilnahme an der Studie verbundenen Risiken und den möglichen Nutzen der oben genannten Studie aufgeklärt. Ich hatte ausreichend Zeit, Fragen zu stellen, die zufriedenstellend beantwortet worden sind, und mich zur Teilnahme an dieser Studie zu entscheiden und weiß, dass die Teilnahme an dieser klinischen Prüfung **vollkommen freiwillig** ist. Ich weiß, dass ich jederzeit und **ohne Angaben von Gründen diese Zustimmung widerrufen kann**, ohne dass sich dieser Entschluss nachteilig auf die spätere Behandlung durch meinen Arzt auswirken wird.

Ich bin darüber unterrichtet worden, dass die Untersuchungsergebnisse außer in der persönlichen Krankenakte auch auf einem sogenannten Prüfbogen festgehalten werden, der - anstatt des Namens - nur mit einer pseudonymisierten Kennziffer versehen ist. Ich stimme der Weitergabe der anonymisierten Daten an Dritte zu.

Ich habe eine Kopie der Patienteninformation und dieser Einwilligungserklärung erhalten. **Ich erkläre hiermit meine freiwillige Teilnahme an dieser Studie.**

Hiermit erkläre ich mich damit einverstanden, an der Untersuchung zur Evaluierung einer Relevanz einer Resistenz gegenüber den antithrombozytären Medikamenten Clopidogrel und ASS teilzunehmen.

Tübingen, _____

Unterschrift des Patienten

Unterschrift des aufklärenden Arztes

D Danksagung

Herrn Professor Dr. Meinrad Paul Gawaz, Ärztlicher Direktor der Abteilung für Kardiologie und Kreislauferkrankungen der Medizinischen Klinik Tübingen, danke ich für die Überlassung des Themas und die Ermöglichung dieser Dissertation.

Danke auch an meinen Betreuer Dr. Tobias Geisler für kontinuierliche und geduldige Unterstützung, Beratung und Korrekturen während aller Phasen der Doktorarbeit.

Vielen Dank an Iris Schäfer, Kalouda Kathrilaka und Heike Runge für alle praktischen Einweisungen und jede tatkräftige Unterstützung bei den zahlreichen Messungen im Labor.

Für das Einlernen und die gute Zusammenarbeit Dank an alle Mit-Doktorandinnen.

Herzlichen Dank für das Korrekturlesen an meinen Bruder Steffen Anders und meine Tante Angelika Hasemann.

Vielen anderen Personen, die nicht alle erwähnt sind, aber mir ebenfalls bei dieser Arbeit geholfen haben, sei an dieser Stelle Dank gesagt.

Dank an meine Eltern für die finanzielle Unterstützung während des Studiums.