

Diplomarbeit

**Einfluss der Thrombozytenfunktion auf die
Reobstruktionsrate nach endovaskulärer
Rekanalisation bei Patienten mit peripherer
arterieller Verschlusskrankheit**

eingereicht von

Erwin Mathew

Mat.Nr.: 0252457

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt am

Institut für Physiologische Chemie

unter der Anleitung von

Ass.-Prof. Priv.-Doz. Mag. Dr.rer.nat Gerhard Cvirn

und

**Dr. med.univ. Thomas Gary
(Klinische Abteilung für Angiologie)**

Graz, Februar 2011

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am _____

Unterschrift

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich besonders bei meinem Professor Mag. Dr. Gerhard Cvirn bedanken, der mich während meiner Diplomarbeit betreut und umfangreich unterstützt hat.

Desweiteren möchte ich mich auch bei meinem Zweitbetreuer Herrn Dr. Thomas Gary bedanken, der mir ebenfalls viele wertvolle Hinweise gegeben hat und sich die Zeit nahm die Diplomarbeit zu korrigieren.

Bei Frau Sandra Gütl möchte ich mich ebenso herzlich bedanken, die mir im Labor immer zur Seite stand und mich mit Ruhe und Gelassenheit unterstützte.

Auch möchte ich mich im Besonderen bei meinen Eltern bedanken, die mich nicht nur finanziell, sondern auch moralisch sehr unterstützt haben.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen	6
Abbildungsverzeichnis	8
Tabellenverzeichnis	8
Zusammenfassung	9
Abstract	10
Einleitung	11
1 Die periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK).....	12
1.1 Allgemeines	12
1.2 Risiko	13
1.3 Verteilung der pAVK.....	13
1.4 Stadieneinteilung nach Fontaine / Rutherford.....	14
1.5 Klinische Manifestation der pAVK	15
1.6 Diagnostik.....	15
1.6.1 Basisdiagnostik:.....	16
1.6.2 Apparative Diagnostik:	17
1.7 Therapie der pAVK.....	19
1.7.1 Prävention und Risikofaktorenmanagement	19
1.7.2 Gehtraining	20
1.7.3 Lumeneröffnende Therapie.....	20
1.7.4 Gefäßchirurgische Intervention.....	23
1.7.5 Pharmakologische Therapie	24
2 Das Gerinnungssystem.....	25
2.1 Überblick.....	25
2.2 Endothelzellen.....	25
2.3 Thrombozyten	26
2.4 Das plasmatische Gerinnungssystem	26
2.5 Die primäre Hämostase	28
2.6 Die sekundäre Hämostase	28
2.7 Inhibitoren des Gerinnungssystem.....	29
2.8 Fibrinolyse	29
3 Material und Methoden	30
3.1 Patienten	30
3.2 Messmethoden.....	33

3.2.1	Thrombelastometrie	33
3.2.2	Thrombozytenaggregation	35
3.2.3	Plättchenadhäsion	38
3.2.4	Statistische Auswertung	40
4	Ergebnisse	41
4.1	Thrombelastometrie-Parameter von Patienten mit schwacher Reobstruktion (Gruppe 1) vs. Patienten mit starker Reobstruktion (Gruppe 2)	41
4.2	Coagulation Time (CT) in Gruppe 1 vs. Gruppe 2	43
4.3	Clot formation time in Gruppe 1 vs. Gruppe 2	44
4.4	Maximum clot firmness (MCF) in Gruppe 1 vs. Gruppe 2	45
4.5	Alpha-Winkel in Gruppe 1 vs. Gruppe 2	46
4.6	Thrombozytenaggregations-Parameter von Patienten mit schwacher Reobstruktion (Gruppe 1) vs. Patienten mit starker Reobstruktion (Gruppe 2)	47
4.7	Kollagen-induzierte Aggregometrie-Parameter in Gruppe 1 vs. Gruppe 2	48
4.8	Tissue Factor-induzierte Aggregometrie-Parameter in Gruppe 1 vs. Gruppe 2	50
4.9	Kollagen/Tissue Factor-induzierte Aggregometrie-Parameter in Gruppe 1 vs. Gruppe 2	51
4.10	Thrombozytenadhäsions-Parameter von Patienten mit schwacher Reobstruktion (Gruppe 1) vs. Patienten mit starker Reobstruktion (Gruppe 2)	53
5	Diskussion	56
	Literaturverzeichnis	58

Abkürzungen

A: Arteria

Aa: Arteriae

ABI: Ankle brachial index

ADP: Adenosindiphosphat

AFS: Arteria femoralis superficialis

Apo: Apolipoprotein

AS: average size

ASS: Azetylsalizylsäure

AT: Antithrombin

ATP: Adenosintriphosphat

AVK: arterielle Verschlusskrankheit

bzw: beziehungsweise

CO₂: Kohlenstoffdioxid

CFT: clot formation time

Coll: Kollagen

CT: Coagulation Time

d.h.: das heißt

DI: Dopplerindex

DNS: Desoxyribonukleinsäure

EKG: Elektrokardiogram

et al: et alii

EVR: endovaskuläre Rekanalisation

GPRP: Glycin-Prolin-Arginin-Prolin

GP: Glykoprotein

h: Stunde

HAES: Hydroxyäthylstärke

HDL: high density lipoprotein

HWZ: Halbwertszeit

IU: International Unit

kg/m²: Kilogramm pro Quadratmeter

km/h: Kilometer pro Stunde

LDL: low density lipoprotein

MCF: maximum clot firmness

mg: Milligramm
min: Minute
mg/dL: Milligramm pro Deziliter
MHz: Megahertz
min/d: Minuten pro Tag
mL: Milliliter
mm: Millimeter
mmHg: Millimeter Quecksilbersäure
mmol/L: Millimol pro Liter
n: Anzahl
NaCl: Natriumchlorid
NO: Stickstoffmonoxid
OE: obere Extremität
Ohm/min: Ohm pro Minute
pmol/L: Pikomol pro Liter
PTA: perkutane transluminale Angioplastie
PTFE: Polytetrafluoroethylen
ROC: Receiver Operating Characteristic
ROTEM: rotational thromboelastometry
SC: surface coverage
SFA: Superficial femoral artery
SD: Standard Deviation
SPSS Inc.: Superior Performing Software System Incorporated
TEA: Thromendarterektomie
TF: Tissue Factor
t-PA: Tissue Plasminogenaktivator
V: Vena
vs: Versus
vWF: Von-Willebrand-Faktor
z.B.: zum Beispiel
 $\mu\text{g/mL}$: Mikrogramm pro Milliliter
 μL : Mikroliter
 μm : Mikrometer
 μm^2 : Mikroquadratmeter

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Berechnung des Dopplerindex

Abbildung 2: ROTEM 05 Vollblut-Hämostase-System

Abbildung 3: Darstellung der einzelnen Messparameter des ROTEM 05

Abbildung 4: Vollblutaggregometer (Modell 590-2D)

Abbildung 5: Aggregationskurve am Vollblutaggregometer

Abbildung 6: aus der Aggregationskurve abgeleiteten Parameter Amplitude, Lag Time und Slope

Abbildung 7: Impact-R Cone and Plate Analyzer

Abbildung 8: Durchführung der Messung am Impact-R

Abbildung 9: Boxplot der CT-Werte im Gruppenvergleich

Abbildung 10: Boxplot der CFT-Werte im Gruppenvergleich

Abbildung 11: Boxplot der MCF-Werte im Gruppenvergleich

Abbildung 12: Boxplot der Alpha-Werte im Gruppenvergleich

Abbildung 13: Parameter der Kollagen-induzierten Vollblut-Aggregometrie

Abbildung 14: Parameter der Tissue Factor-induzierten Vollblut-Aggregometrie

Abbildung 15: Parameter der Kollagen/Tissue Factor-induzierten Vollblut-Aggregometrie

Abbildung 16: Parameter der Thrombozytenfunktionsmessung

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Stadieneinteilung nach Fontaine/Rutherford

Tabelle 2: Lumeneröffnende Therapie

Tabelle 3: Stent Typen

Tabelle 4: Komplikationen bei Stent Therapie

Tabelle 5: Gerinnungsfaktoren

Tabelle 6: Patientencharakteristika

Tabelle 7: Thrombelastometrie-Parameter Gruppe 1 vs. Gruppe 2

Tabelle 8: Vollblut-Aggregometrie-Parameter Gruppe 1 vs. Gruppe 2

Tabelle 9: Thrombozyten-Adhäsionsparameter Gruppe 1 vs. Gruppe 2

Zusammenfassung

Hintergrund

Bei pAVK-Patienten mit Stentimplantation besteht ein hohes Risiko für die Entstehung von neuerlichen Engstellen im behandelten Gefäßabschnitt. Nach Stentimplantation an den Oberschenkelgefäßen (Arteria femoralis superficialis, AFS) beträgt diese bis zu 50% binnen einem Jahr nach Therapie. Die Ursache dafür ist derzeit unklar, ein Unterschied im Gerinnungssystem ist bei diesen Patienten denkbar.

Zielsetzung

Die Gerinnungsparameter von pAVK-Patienten mit Stentimplantation im Bereich der AFS mit geringem Reobstruktionsgrad (<50%; Gruppe 1) sollen mit jenen mit hohem Reobstruktionsgrad (>50%; Gruppe 2) verglichen werden. Thrombelastometrie und Thrombozytenfunktionsmessungen sollen zur Anwendung kommen. Ziel der Studie ist es, einen Gerinnungsparameter zu identifizieren, der möglicherweise als Prädiktor für Stentverengungen dienen könnte.

Ergebnisse

Die Thrombozytenfunktion scheint keine Rolle bei der Entstehung einer Reobstruktion zu spielen. Allerdings zeigten sich bei den Thrombelastometrie-Parametern signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Das Blut der Patienten aus Gruppe 2 bildet auf einen Stimulus hin schneller erste Fibrinfäden (kürzere Coagulation Times) und auch die darauffolgende Clotstabilisierung durch Polymerisation und Quervernetzung von Fibrinmonomeren (größerer alpha-Winkel) läuft schneller ab.

Schlussfolgerungen

Unsere Ergebnisse legen daher den Schluß nahe, dass die Blutgerinnung bei der Reobstruktion von Stents in der AFS eine wichtige Rolle spielt. Wir vermuten, dass die hohen Konzentrationen an atherogenen Lipoproteinen im Blut der Patienten mit hochgradiger Reobstruktion zu einer Aktivierung des Gerinnungssystems führen. Ein aktiviertes Gerinnungssystem wiederum, also die Bildung größerer Mengen an Thrombin, dem Schlüsselenzym der Blutgerinnung, fördert die Reobstruktion von Stents.

Unter unseren Laborbedingungen scheint eine bei pAVK-Patienten mit Stentimplantation gemessene Coagulation Time <444,5 s auf ein aktiviertes Gerinnungssystem und ein damit verbundenes erhöhtes Risiko für die Bildung eines Stentverschlusses hinzuweisen.

Schlüsselwörter: Stentimplantation, Thrombelastometrie, Thrombozytenfunktion

Abstract

Background

Restenosis rate after stent implantation in the superficial femoral artery (SFA) is up to 50% within one year. The reasons for the development of restenosis are not completely understood so far. Recently, low levels of HDL-Cholesterol, high levels of LDL-Cholesterol and high levels of Apolipoprotein B were associated with SFA-stent reocclusion.

Objective

Elevated levels of atherogenic lipoproteins might lead to coagulation activation in peripheral artery disease (PAD) patients. The aim of our study was to evaluate whether an activated coagulation system is associated with the development of reobstruction and reocclusion in PAD-patients with SFA-stenting.

Methods

Thrombelastometry and platelet function parameters collected in whole blood of 14 patients with stent reobstruction <50% were compared with the parameters of 20 patients with stent reobstruction >50%. A combination of collagen and endogenously generated thrombin served as coagulation activator and platelet agonist.

Results

Differences in platelet adhesion and platelet aggregation parameters were not statistically significant in both groups. However, the thrombelastometry parameters “Coagulation Time” and “alpha-angle” indicated an activated coagulation system in patients with stent reobstruction >50%.

Conclusions

Our data indicate that patients developing a hemodynamically relevant (>50%) stent reobstruction show an activated coagulation system. Under our experimental conditions a “Coagulation Time” <444.5 s might indicate that a patient is at a high risk for the development of relevant SFA-stent reobstruction.

Key words: Stent implantation; Thrombelastometry; Platelet function

Einleitung

Ziel der Diplomarbeit

Bei Patienten mit peripherer arterieller Verschlusskrankheit (pAVK) und stattgehabter endovaskulärer Therapie besteht ein hohes Risiko für die Entstehung von neuerlichen Engstellen in den behandelten Gefäßabschnitten. Nach Stentimplantation an den Oberschenkelgefäßen (Arteria femoralis superficialis) beträgt diese bis zu 50 % binnen eines Jahres nach Therapie. Manche Patienten entwickeln gar keine Engstelle in den implantierten Stents, andere wiederum entwickeln binnen weniger Monate Stentverschlüsse. Die Ursache für dieses unterschiedliche Outcome ist derzeit unklar, ein Unterschied in der Thrombozytenfunktion bzw. in der plasmatischen Gerinnung ist bei diesen Patienten denkbar.

Deshalb wurden im Rahmen dieser Diplomarbeit die Blutgerinnungsparameter von pAVK-Patienten mit Stentimplantation im Bereich der Arteria femoralis superficialis mit geringem Reobstruktionsgrad mit jenen von pAVK-Patienten mit hohem hämodynamisch relevanten Reobstruktionsgrad bzw. Stentverschlüssen in diesem Gefäßsegment verglichen. Die Gerinnungsuntersuchungen wurden im Vollblut durchgeführt. Thrombelastometrie, Thrombozytenaggregation und –adhäsion wurden gemessen. Die in dieser Diplomarbeit angewandten Methoden unterscheiden sich durch die Art der Probenaktivierung wesentlich von den üblichen Routinemethoden. Bei der Thrombelastometrie wurden kleine Mengen an Tissue Faktor zur Aktivierung eingesetzt. Dadurch werden die Messungen wesentlich sensibler als die Routinemethoden, in welchen große Mengen an Aktivator eingesetzt und die Proben außerdem noch stark verdünnt werden. Zur Messung der Thrombozytenaggregation wurde eine Mischung aus Kollagen und endogenem Thrombin eingesetzt. Diese Art der Aktivierung wurde an der Medizinischen Universität Graz entwickelt und erlaubt die Messung der Thrombozytenaggregation unter möglichst physiologischen Bedingungen. Ziel der Studie war es, mit diesen sensitiven Methoden einen Gerinnungsparameter zu identifizieren, der möglicherweise als Prädiktor für Stentverengungen dienen könnte.

1 Die periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK)

1.1 Allgemeines

Die periphere arterielle Verschlusskrankheit beschreibt eine pathologische Veränderung der arteriellen Durchblutung der Extremitäten. Sie ist die häufigste auftretende chronische Gefäßkrankheit des arteriellen Gefäßsystems. Die Durchblutungsstörungen entstehen durch zunehmende Einengung (Stenose) des Gefäßlumens oder durch den akut einsetzenden Gefäßverschluss. Die Hauptursache der Gefäßveränderung beruht (zu 95%) auf der Atherosklerose (Arterienverkalkung). In 90% der Fälle ist die untere, in 10% die obere Extremität des Körpers betroffen.¹ Die Prävalenz dieser Erkrankung nimmt mit dem Alter zu. Zwischen dem 38. und 59. Lebensjahr beträgt diese 5,9%. Bei Erkrankten im Alter von 60 bis 69 Jahren steigt sie auf 15,9%, bei Patienten des höheren Alters (zwischen 70 und 82 Jahren) beträgt sie schon 33,8%.²

Die Beschwerden der erkrankten Patienten sind vom Stadium der Erkrankung abhängig und beginnen mit dem Stadium I (nach Fontaine), der Beschwerdefreiheit (asymptomatisches Stadium).

Später treten im Stadium II (nach Fontaine) belastungsabhängige Schmerzen mit der dazugehörigen Einschränkung der Gehstrecke (Claudicatio intermittens) auf. Des Weiteren lässt die Lokalisation der Schmerzen (Waden-, Oberschenkel- oder Gesäßmuskulatur) auf die Höhe der Gefäßeinengung bzw. des Gefäßverschlusses schließen, da Ischämiebeschwerden in den Regionen distal der Gefäßengstelle auftreten, da in diesen Segmenten der Sauerstoffmangel (bedingt durch die arterielle Engstelle) auftritt.

Im Stadium III nach Fontaine ist die Sauerstoffversorgung durch die Engstelle so stark beeinträchtigt, dass die Extremität des Patienten bereits in Ruhe unter Sauerstoffmangel leidet und somit ein ischämischer Ruheschmerz an der betroffenen Extremität auftritt.

Das letzte Stadium der Erkrankung (Stadium IV nach Fontaine) ist durch Gewebsuntergang charakterisiert. Ulzerationen (vor allem an den Zehen als „letzte Wiesen“ der Sauerstoffversorgung) treten in diesem Stadium auf; diese können bis zur amputationspflichtigen Gangrän führen.

1.2 Risiko

Hauptrisikofaktoren für die Entstehung der Arteriosklerose sind Nikotinkabusus, Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie und Lipidstoffwechselstörungen. Auch genetische Faktoren werden diskutiert. Durch das Fehlen von Sauerstoff und Nährstoffen entstehen Symptome wie Schmerz, neurologische Einschränkungen (z.B.: Schwäche und Dysästhesie), auch eine Abkühlung der Extremität ist möglich. Für ausgeprägte klinische Symptomatik ist eine hochgradige Engstelle der Arterie vonnöten. Bei langsam progredienter Erkrankung wird die Ernährung der Extremität über Kollateralen gesichert.³

1.3 Verteilung der pAVK

Es werden nach anatomischem Gefäßbefall folgende Unterarten der pAVK unterschieden¹:

- 1) Beckentyp (Aorta / Aa. Iliacae): 35% der pAVK Erkrankten. Die Patienten beschreiben Beschwerden im Gesäß- und Oberschenkelbereich.
- 2) Oberschenkeltyp (A. femoralis / A. poplitea): 50% der pAVK Erkrankten. Schmerzen treten in der Wade auf.
- 3) Peripherer Typ (Unterschenkel- und Fußarterien): 15% der pAVK Erkrankten. Die Patienten geben Beschwerden in der Fußsohle an.
- 4) Abdomineller Typ (Leriche-Syndrom): 1% der pAVK Patienten. Die Beschwerden treten im Bereich der Gluteal- und Beckenmuskulatur auf.

AVK der oberen Extremität (OE):

- 1) Digitaler Typ: 70% der AVK Erkrankten der OE. Es finden sich Stenosen und Verschlüsse in den Fingerarterien. Die Symptome beinhalten Kälteempfindlichkeit, schmerzhafte Rhagaden, Nekrosen an den Fingerkuppen, Wachstumsstörungen der Fingernägel und chronische Paronychien.
- 2) Schultertyp (A. subclavia / A. axillaris): 28% der AVK Erkrankten der OE. Die Patienten zeigen geringe Beschwerden, jedoch findet sich eine schnelle Ermüdbarkeit der Arme beim Arbeiten über dem Kopf.

- 3) Aortenbogensyndrom: 2% der AVK Erkrankten der OE. Stenosen der supraaortalen Gefäße.⁴

1.4 Stadieneinteilung nach Fontaine / Rutherford

Zusätzlich zu der oben ausgeführten Einteilung betreffend der Lokalisation des Gefäßbefalls wird die pAVK auch nach anderen unten ausgeführten klinischen Gesichtspunkten in Stadien eingeteilt. Die Einteilung im europäischen Sprachraum erfolgt nach Fontaine et al. (1956). Im angloamerikanischen Raum wird die Klassifikation nach Rutherford et al. (1991) verwendet, welche etwas differenzierter ist.⁵

Klassifikation nach Fontaine		Klassifikation nach Rutherford	
Stadium	Symptome	Stadium	Symptome
I	asymptomatische AVK, keine Beschwerden	0	asymptomatische AVK
II	Claudicatio intermittens - bei Gehstrecke > 200 Meter (Stadium IIa) - bei Gehstrecke < 200 Meter (Stadium IIb)	1	Geringe Claudicatio intermittens, Dopplerdruckwert > 50 mmHg
		2	mittlere Claudicatio intermittens
		3	Schwere Claudicatio intermittens, Dopplerdruckwert < 50 mmHg
III	Ruheschmerzen	4	Ruheschmerzen
IV	Nekrose, Gangrän, Ulkus		
		5	Distale atrophische Läsion mit akralem Gewebsuntergang
		6	Nach proximal ausgehende Läsion, (über das Niveau der Mittelfußknochen hinausgehend)

Tabelle 1: Stadieneinteilung nach Fontaine/Rutherford⁵

1.5 Klinische Manifestation der pAVK

Die Arteriosklerose ist mit 95% die Hauptursache einer pAVK. Die restlichen 5% werden durch embolische Verschlüsse oder entzündliche Gefäßerkrankungen hervorgerufen.

Die Symptome der Arteriosklerose werden durch das von der Durchblutungsstörung betroffene Organ geprägt. Die Durchblutungsstörung führt zu einer arteriellen Minderperfusion, welche sich in folgenden Punkten manifestiert:

- 1) Minderversorgung mit Sauerstoff (Ischämie)
- 2) Minderversorgung von energieliefernden Substraten
- 3) Funktionsstörungen
- 4) Schmerzen
- 5) Nekrose (bei Unterschreiten kritischer Werte)

Bei einer langsam fortschreitenden Einengung der Gefäßstrombahn entstehen Kollateralkreisläufe (Umgehungskreisläufe). Diese können die vorhin erwähnte Minderdurchblutung abschwächen und das Auftreten von akuten Beschwerden verzögern.

Klinische Manifestationsform der pAVK der unteren Extremität

Der belastungsabhängige ischämische Schmerz, der die Erkrankten nach einer bestimmten Gehstrecke zwingt stehenzubleiben, ist das Leitsymptom der pAVK der unteren Extremität. Dieses Symptom führt auch zu der Bezeichnung „Schaufensterkrankheit“. Nach der Einteilung von Fontaine wird dieses Symptom ab dem zweiten Stadium erkennbar (Claudicatio intermittens).

1.6 Diagnostik

Die Diagnose der pAVK und die Bestimmung des pAVK-Schweregrades werden in erster Linie im Rahmen der Anamnese sowie der physikalischen Untersuchung durchgeführt. Ziel ist die grobe Lokalisierung der Gefäßobstruktion (betroffenes Gefäßsegment) und die Einteilung der pAVK in das Stadium nach Fontaine. Weitere

insbesondere apparative Untersuchungsmethoden werden für die weitere pAVK-Diagnostik benötigt.⁷

1.6.1 Basisdiagnostik:

1. Anamnese. Diese beinhaltet die Familienanamnese, prädisponierende Faktoren (Rauchen, Hyperlipidämie, Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie), bekannte Gefäßerkrankungen, aktuelle Beschwerden, neurologische Einschränkungen, vom Patienten selbst beobachtete Hautveränderungen. Ausschlaggebend für die Anamnese ist der ischämische Schmerz. Dieser sollte genau beschrieben und dokumentiert werden.
2. Inspektion (Hautfarbe, Hauttemperatur, Hautentzündungen, Haarausfall, Pilzinfektionen, Druckstellen, Nekroseareale)
3. Palpation: Pulsstatus: Die Pulse werden an den Beinen und Armen getastet. Die getasteten Pulse beider Seiten werden verglichen. Auch die Hauttemperatur an verschiedenen Körpersegmenten wird verglichen.
4. Auskultation. Mittels Stethoskop werden Strömungsgeräusche des Blutes in den Arterien abgehört (Hinweis auf eine Stenose).
5. Ratschow'sche Lagerungsprobe. Für diesen Test legt sich der Patient auf den Rücken und hebt seine Beine in einem 90° Winkel an. Danach werden ca. 30 Sprunggelenksbewegungen in der Minute ausgeführt (max. zwei Minuten lang). Anschließend setzt sich der Patient wieder auf und lässt seine Beine herabhängen, nun werden die Zeiten der Venenfüllung gemessen. Bei pAVK Erkrankten sind die Venenfüllzeiten verlängert.
6. Faustschlussprobe. Bei diesem Test hebt der Patient seine Arme in die Höhe. Er schließt und öffnet die Fäuste 60-mal innerhalb von zwei Minuten. Bei pAVK Erkrankten (der oberen Extremität) treten nach den zwei Minuten blasse Flecken auf der Handfläche und Innenseite der Finger auf. Des Weiteren kann der Untersuchende auch die arterielle Wiederauffüllzeit beurteilen, nachdem der Patient seine Arme fallen lässt.

1.6.2 Apparative Diagnostik:

1.6.2.1 Nicht invasiv:

Folgende diagnostische apparative Maßnahmen sind bei AVK Patienten sinnvoll:

1. EKG
2. Laufbandergometrie
3. Oszillographie
4. Dopplerdruckmessung (Ankle brachial index = ABI)
5. Ultraschall (Doppler-Ultraschall, B-Bild-Sonographie, Duplexsonographie)
6. Kapillarmikroskopie, transkutane Sauerstoffmessung, Laserdopplerverfahren

Nachfolgend werden einige oben ausgeführte Untersuchungen eingehender dargestellt:

1.6.2.1.1 Laufbandergometrie

Es erfolgt die Bestimmung der Wegstrecke, welche unter standardisierten Bedingungen gemessen wird. Die Laufbandgeschwindigkeit beträgt 3 km/h mit einer Steigung von 5%. Hierbei wird zwischen einer absoluten und relativen schmerzfreien Gehstrecke unterschieden. Die absolute schmerzfreie Gehstrecke ist durch den Beginn des Ischämieschmerzes gekennzeichnet. Die relative schmerzfreie Gehstrecke beschreibt die Strecke, die den Patienten in weiterer Folge zum Anhalten zwingt.

Diese Untersuchung eignet sich zur Bestimmung des klinischen Schweregrades, aber auch um die Kompensation der pAVK zu interpretieren. Weiters kann sie zur Verlaufskontrolle dienen.⁸

1.6.2.1.2 Dopplerdruckmessung (ABI)

Mittels einer Blutdruckmanschette und einer 8-MHz Sonde eines Dopplergerätes (aufgelegt auf die A. radialis) wird der systolische Blutdruck bestimmt. Das gleiche Vorgehen erfolgt am distalen Unterschenkel, die Sondenplatzierung erfolgt auf der A. tibialis anterior und auf der A. tibialis posterior. Die Auswertung erfolgt mittels des Dopplerindex (Abb.1). Bei Patienten mit langjährigen Diabetes Mellitus sowie auch bei

Hochaltrigen und bei Dialysepatienten kann es zu starker Kalzifizierung der Gefäße kommen, eine sogenannte Mediasklerose entsteht. Bei Patienten mit solcher Mediasklerose ist eine Kompression des kalzifizierten Gefäßes mit der Blutdruckmanschette nicht möglich, der ABI Wert ist dadurch deutlich erhöht (>1.3). Diese Werte sind nicht aussagekräftig. Hier empfiehlt sich die Messung des Zehendrucks anstatt des Unterschenkeldrucks, da die Zehengefäße von der Kalzifizierung weniger stark betroffen sind. Für die Messung dieses Drucks gibt es eigens entwickelte Geräte mit Zehendruckmanschetten, die vornehmlich in Spezialambulanzen zum Einsatz kommen.

Der ABI gilt als eine der hilfreichsten Screening-Methoden⁹. Er gilt als sehr sensitiv, ein Wert von <0.9 spricht mit einer Sensitivität von 95% für das Vorliegen einer pAVK. Werte zwischen 0.9 und 1.3 sprechen mit einer Sensitivität von annähernd 100% gegen das Vorliegen einer pAVK².

Berechnung des Dopplerindex¹⁰

Dopplerindex (DI) = systolischer Knöchelarteriendruck/systolischer Armarteriendruck

DI normal >0.9; mittelgradige pAVK 0.4 - 0.9; schwere pAVK <0.4

Abbildung 1: Berechnung des Dopplerindex¹⁰

1.6.2.2 Invasiv:

1. Arteriographie:
 - a. konventionelle Angiographie Technik
 - b. intraarterielle und intravenöse digitale Subtraktionsangiographie
2. CO₂ Angiographie
3. Computertomographie mit Kontrastmittelgabe
4. Magnet Resonanz Angiographie

1.7 Therapie der pAVK

Die Therapiewahl (konservativ oder invasiv) der pAVK ist von der Lokalisation der Gefäßstenose bzw. Gefäßläsion, vom Erkrankungsstadium (nach Fontaine) und vom Zustand des Patienten abhängig.

Behandlungsziel ist die Reperfusion der Gefäßstrombahn.

Die Therapie wird in vier Gruppen unterteilt:

- 1) Prävention und Risikofaktorenmanagement
- 2) Gehtraining und Immobilisation/Lagerung
- 3) Lumeneröffnende und gefäßchirurgische Therapie
- 4) Medikamentöse Therapie

1.7.1 Prävention und Risikofaktorenmanagement

Unabhängig vom Stadium der pAVK und dem Alter des Patienten sind Allgemeinmaßnahmen zu beachten. Diese Allgemeinmaßnahmen beinhalten folgenden Punkte: Nikotinkarenz, Gewichtsreduktion, optimale Diabetes mellitus- Einstellung, Kontrolle des arteriellen Hypertonus, Überprüfung der Lipidparameter. Die Compliance bei pAVK Patienten ist oft mäßig, wie man am Beispiel der Nikotinentwöhnung sieht: Jeder fünfte Erkrankte rauchte binnen zwei Jahren nach der Nikotinentwöhnung wieder¹¹.

Lokale Wärmeanwendungen, hyperämisierende Salben (Blutzirkulation der Haut erhöht sich auf Kosten der Blutzirkulation des Muskelgewebes) und Kälteanwendungen (Engstellung kleiner Arteriolen) sind bei pAVK Patienten kontraindiziert. Beengendes Schuhwerk sollte vermieden werden, da es zu Drucknekrosen führen kann. Die Entstehung trophischer Störungen und Bagatelltraumen sollten ebenso - soweit möglich - vermieden werden¹¹.

Schmerzen in den Stadien III und IV nach Fontaine sollten unbedingt analgetisch behandelt werden. Die Einnahme von ergotaminhaltigen Migränemittel sollte vermieden werden, da diese Pharmaka eine Vasokonstriktion verursachen¹¹.

1.7.2 Gehtraining

Diese Art der Bewegungstherapie ist für eine Besserung der pAVK ab dem Stadium II (Fontaine) wichtig. Das Gefäßtraining sollte als Intervalltraining (3x 30 min/d zügiges Gehen mit Pausen) durchgeführt werden. Ziel des Gehtrainings ist die Verbesserung der Kollateralenbildung und damit die Schaffung größerer Perfusionsreserven. Dies bewirkt eine Zunahme des peripheren Gefäßgesamtquerschnitts und damit eine funktionelle Kompensation der Stenosen und Verschlüsse („natürlicher Bypass“)¹².

Lagerung

Im fortgeschrittenen Stadium der pAVK (Stadium III und IV) ist das Leitsymptom der Ruheschmerz. Der Patient sollte die betroffene Extremität tief lagern, um den Perfusionsdruck zu erhöhen.

1.7.3 Lumeneröffnende Therapie

Ab dem Stadium II (nach Fontaine) sind Rekanalisations- und Revaskularisationsmaßnahmen indiziert. Diese Verfahren sind symptomorientiert und stellen keine Kausaltherapie dar. Grundsätzlich unterscheidet man zwischen Rekanalisationsverfahren und Revaskularisationsverfahren.

Rekanalisation	Revaskularisation
Thrombolyse von Gefäßverschlüssen	Gefäßprothese
Atherektomie	In-situ-(Venen) Bypass
Embolektomie	Extraanatomische Gefäßrekonstruktion
Thrombendarteriektomie	
Rotationsangioplastie	
PTA (Angioplastie)	

Tabelle 2: Lumeneröffnende Therapie

1.7.3.1 Perkutane Transluminale Angioplastie (PTA)

Die PTA findet bei symptomatischen Stenosen und Verschlüssen der Arterien Verwendung. Die PTA ist erst ab dem Stadium IIb (Fontaine) indiziert, jedoch lassen sich auch Dilatationen im Stadium IIa bei besonders rupturgefährdeten Läsionen zur Prophylaxe einer akuten Extremitätenischämie rechtfertigen¹³.

Der häufigste Zugang zum arteriellen Gefäßsystem der unteren Extremität ist die A. femoralis communis. Hier kann man den antegraden aber auch den retrograden Zugang wählen. Mit dem antegraden Zugang lassen sich die ipsilaterale A. femoralis superficialis, die A. poplitea sowie die Unterschenkelgefäße erreichen. Bei der retrograden Technik sind alle kontralateralen Gefäßregionen und auch die ipsilaterale Beckenstrombahn erreichbar.

Die Punktion der A. brachialis kann für die Behandlung von Schulter- und Armarterien verwendet werden.

Beim Zugang über die A. femoralis communis wird die Nadel unterhalb des Leistenbandes eingeführt. Der Zugang wird mit einer Schleuse gesichert. Nach dem Vorschieben des Führungdrahtes sollte die Lage im Gefäßsystem mit einer Durchleuchtung kontrolliert werden. Danach wird die Gefäßstenose aufgesucht und überwunden. Anschließend wird der Katheter vorgeschoben, auch hier findet eine Durchleuchtung statt, um die Lage des Katheters zu objektivieren. Nun wird der Katheter gegen einen Ballonkatheter gewechselt. Der Durchmesser des Dilatationsballons wird so gewählt, dass er mit dem Durchmesser des ursprünglichen Gefäßes übereinstimmt. Durch Zufuhr eines Kontrastmittel-Kochsalz Gemisches entfaltet sich der Ballon. Der Haupteffekt der PTA liegt in der Überdehnung der Gefäßwand. Diese führt zu Wandeinrissen, welche wiederum zu einer Ektasie des Gefäßes führt. Erfolgreich ist die Behandlung wenn das Gefäß auf 80% oder mehr des ursprünglichen Durchmessers erweitert wurde. Komplikationen sind selten, jedoch besteht immer das Risiko einer Kontrastmittelunverträglichkeit und einer Blutung. Durch das Einführen des Katheters kann es zu Manipulationen der Kollateralgefäße kommen, auch periphere Embolien können ausgelöst werden.

1.7.3.2 Stents

Stents sind transluminal applizierbare Gefäßendoprothesen. Die primäre Indikation der Stentimplantation sind Stenosen und Verschlüsse im iliakalen und femoropoplitealen Segment mit hoher Rückstellkraft der dilatierten Gefäßwand. Des Weiteren sind Komplikationen einer PTA (Gefäßdissektionen) und auch Gefäßkompressionen von außen Gründe für eine PTA mit Stentimplantation¹⁴.

Stent Typen
Ballonexpandierbare Stens (Strecker-, Palmaz-Stents)
Selbstexpandierende Stents (Wall-Stent)
Stents mit thermischem Erinnerungsvermögen (Memory-Metall)
Stens mit halbelastischer Flexibilität durch röhrenförmig gestrickte, verformbare Drahtgeflechte

Tabelle 3: Stent Typen

Technik:

Das Vorgehen ähnelt prinzipiell dem Vorgehen bei der PTA. Zuerst wird die Stenose vorgedehnt um eine sichere Passage des Stents zu ermöglichen danach wird der Stent platziert. Bei der Applikation von ballonexpandierbaren Stents kann es vorkommen, dass diese an Plaques festhängen und dislozieren.

Der Stentdurchmesser wird einen Millimeter größer als der Ballon gewählt, damit ein sicheres Haften an der Gefäßwand gewährleistet wird¹⁵.

Der Stent verursacht durch die Reizung an der Gefäßwand eine Hyperplasie der Intima. Diese kann zu einer Restenose und zum Verschluss führen. Um diesen Mechanismus entgegenzuwirken werden unterschiedliche Stentarten (unter anderem auch medikamentenbeschichtete Stents) verwendet.¹⁵

Komplikationen:

Dissektionen	0,9 %
Lokale Thrombosen und Thromboembolien	0,7 %
Hämatome	0,6 %
Gefäßrupturen	0,3 %

Tabelle 4: Komplikationen bei Stentimplantation¹⁴

1.7.4 Gefäßchirurgische Intervention

Die gefäßchirurgischen Verfahren werden im Stadium IIb nach Fontaine und in den Stadien III und IV (Extremitätenerhalt) verwendet. Auch bei Aneurysmata der Aorta abdominalis oder der A. poplitea findet die Gefäßchirurgie ihre Verwendung¹⁶.

Folgende gefäßchirurgische Techniken werden genutzt:

- 1) Thrombendarterektomie (TEA)
- 2) Erweiterungsplastik (Patch-Plastik)
- 3) Embolektomie
- 4) Bypass (Venen, in-situ oder Kunststoff)

1.7.4.1 Thrombendarterektomie (TEA)

Bei der TEA wird das zu operierende Gefäß längs eröffnet und einschließlich der Intima mittels Dissektionsspatel oder Ringsdesobliteration ausgeschält. Es wird zwischen einer geschlossenen TEA (kleine proximale Gefäßinzision) und einer offenen erweiterten TEA unterschieden (Inzision über die Gesamtlänge des Verschlusses)¹⁶.

1.7.4.2 Erweiterungsplastik

Mittels einer speziellen Schnittführung werden Interponate über der Femoralisgabel eingelegt und dadurch das Lumen erweitert.

1.7.4.3 Embolektomie

Man unterscheidet hier zwischen der direkten Embolektomie und der indirekten Embolektomie. Bei der direkten Methode wird die Arterie an der Embolisationsstelle geöffnet und der Embolus wird lokal entfernt. Bei der indirekten Methode wird die Arterie proximal des Embolus geöffnet und die Embolektomie findet mittels Fogarty-Katheter statt.

1.7.4.4 Bypass

Als Gefäßersatz wird in erster Linie die körpereigene V. saphena magna verwendet. Als körperfremdes Material kommen PTFE (Teflon) Bypasses zum Einsatz. Die autologe Vene wird bei Stenosen an den Beinen verwendet. Das körperfremde Material findet

seine Verwendung bei aorto bifemorale Y-Bypasses oder wenn keine autologe Vene mehr zu Verfügung steht¹⁷.

1.7.5 Pharmakologische Therapie

Um das Fortschreiten der Erkrankung zu verhindern, sollten die Patienten langfristig mit einer thrombozytenfunktionshemmenden Therapie behandelt werden. Hierfür verwendet man Acetylsalicylsäure (ASS) 100mg/d. Durch ASS wird die Thromboxan-A₂- und die Prostazyklinsynthese in Arterien gehemmt. Wird ASS vom Patienten nicht gut vertragen, zeigt sich die Substanz als zu wenig wirkungsvoll (neuerlicher Gefäßverschluss unter ASS) oder wurde auch eine Stentimplantation durchgeführt, kann man alternativ – und bei stattgehabter Stentimplantation auch zusätzlich zu ASS - Clopidogrel 75mg/d geben.

Eine Antikoagulation des plasmatischen Gerinnungssystems soll eine weitere Thrombosierung bei akutem Verschluss verhindern, die intravasale Gerinnung nach lumeneröffnenden Verfahren hemmen und sie gilt auch als Rezidivprophylaxe bei kardialen Embolien.

Zu weiteren Therapiemöglichkeiten zählen vasoaktive Substanzen. Zu diesen gehören auch die in prospektiven Studien untersuchten Prostaglandine. Sie wirken vasodilatatorisch, hemmen die Thrombozytenaggregation und steigern die endogene fibrinolytische Aktivität. Die Verwendung dieser Substanzen ist bei erfolglosen lumeneröffnenden Maßnahmen gerechtfertigt.

Bei Patienten mit erhöhten Hämatokrit Werten (>42%) kann die Gewebedurchblutung durch Hämodilution mit Hydroxyäthylstärke (HAES) verbessert werden¹⁸.

2 Das Gerinnungssystem

2.1 Überblick

Durch den Vorgang der Blutgerinnung (Hämostase) kann sich der menschliche Organismus bei Verletzungen vor Blutverlusten schützen. Bei Störungen des Gerinnungssystems kann es zu abnormen Blutungen durch eine nicht ausreichende Koagulabilität (hämorrhagische Diathese) oder zu einem erhöhten Thrombosrisiko durch eine verstärkte Koagulabilität (Thrombophilie) kommen. Die Blutstillung basiert auf der Wechselwirkung zwischen Gefäßwand (Endothelzellen), Blutplättchen (Thrombozyten), plasmatischer Gerinnung und dem fibrinolytischen System.

2.2 Endothelzellen

Das Endothel, Bestandteil der Tunica intima, bildet eine selektive Schranke zwischen Blutstrom und Gefäßwand für gelöste Substanzen, Makromoleküle und Zellen¹⁹. Das Endothel differenziert sich je nach Aufgabenbereich. Man findet eine kontinuierliche Grenzschicht im Gehirn (Blut-Hirn Schranke) aber auch eine unterbrochene in der Niere (Glomeruluskapillaren). Der Austausch zwischen dem Gefäßlumen und dem Interstitium wird aktiv kontrolliert.

Der Gefäßtonus wird vom Endothel reguliert, seine Zellen produzieren zum einen Endothelin-1 (Vasokonstriktor) zum anderen produzieren sie Stickstoffmonoxid (NO) und Prostazyklin, zwei Vasodilatoren. Veränderungen der Hämodynamik (sowohl metabolisch als auch mechanisch) werden von den Endothelzellen registriert und weitergeleitet.¹⁹

Im Falle einer Verletzung oder Entzündung steigert sich die Permeabilität des Endothels (Auslöser sind Serotonin, Thrombin, Histamin und Bradykinin). Dadurch kommt es zur Lückenbildung im Endothel und in weiterer Folge zu unselektiven Extravasation von Molekülen und Wasser und schlussendlich zum Gewebsödem.

Die Endothelzellen nehmen eine zentrale Rolle in dem Gerinnungsprozess ein. Einerseits nehmen sie an gerinnungshemmenden als auch an gerinnungsfördernden Prozessen teil. Des Weiteren wird durch die Freisetzung des Plasminogen-Aktivators t-PA die Fibrinolyse aufrecht erhalten.

2.3 Thrombozyten

Thrombozyten sind die kleinsten Zellen (2 – 4 µm) des Blutes, sie haben eine wichtige Rolle in der Blutgerinnung. Im Falle einer Gefäßverletzung heften sie sich an das Gewebe an oder sie heften sich aneinander an. Ziel ist es die Blutung zu stillen.

Sie werden im Knochenmark aus Megakaryozyten gebildet. Sie besitzen weder Zellkerne noch tragen sie Erbinformation (DNS). Im Blut liegen sie in einem nicht aktiven Zustand vor, um eine unkontrollierte Hämostase zu verhindern. Die Anzahl im peripheren Blut beträgt in etwa 150 000 – 300 000/µl. Pro Stunde werden in etwa 250 Milliarden neue Thrombozyten gebildet. Sie haben eine scheibenartige flache Form und besitzen an ihrer Oberfläche vereinzelt Öffnungen des internen Kanalsystems. Während der Blutgerinnung verändern sie ihre morphologische Form nachdem sie durch diverse Mediatoren (Thrombin, ADP) aktiviert wurden. Ihr Abbau findet durch das retikuloendotheliale Phagozytensystem in der Leber und Milz statt.

Im Inneren der Thrombozyten findet man verschieden Granula. So findet man in der alpha Granula Fibrinogen, beta – Thromboglobulin, Plättchenfaktor 4 und Wachstmsfaktoren. In der beta Granula (dense bodies) findet man ADP und Serotonin. Sie besitzen ein kanalikuläres System dass sich nach außen hin öffnet, um den Austausch von Substanzen zu ermöglichen.²⁰

2.4 Das plasmatische Gerinnungssystem

Dieses System ist ein selbstamplifizierendes und dynamisch reguliertes Multienzymsystem²¹. Es beinhaltet Gerinnungsfaktoren, die sich im Plasma als inaktive Vorstufen befinden. Sobald sie aktiviert werden bilden sie in dem folgenden Enzymkomplex das aktive Enzym.

Die Benennung der Gerinnungsfaktoren erfolgt, in der Reihenfolge ihrer Entdeckung, in römischen Ziffern. Um zwischen der aktiven und inaktiven Form zu unterscheiden wird der Faktorenbezeichnung ein kleines „a“ (für aktiviert) hinzugefügt. Die Gerinnungsfaktoren sind Glykoproteine und werden bis auf einen Anteil des Faktors VIII in der Leber gebildet. Die Synthese der Faktoren II, VII, IX und X ist Vitamin K abhängig²¹.

Gerinnungsfaktor	Ursprüngliche Bezeichnung	Syntheseort	Plasma-konzentration	HWZ
Faktor I	Fibrinogen	Hepatozyten	150-450 mg/dl	3-4 Tage
Faktor II	Prothrombin	Hepatozyten/Megakaryozyten	100 µg/ml	72 h
Faktor V	Proakzelerin	Hepatozyten	10 µg/ml	15 h
Faktor VII	Prokonvertin	Hepatozyten	0,5 µg/ml	4 h
Faktor VIII	Antihämophiler Faktor	Sinusoidale Endothelzellen	0,1 µg/ml	8-12 h
Faktor IX	Christmas-Faktor	Hepatozyten	5 µg/ml	12-24 h
Faktor X	Stuart-Prower-Faktor	Hepatozyten	10 µg/ml	50 h
Faktor XI	Rosenthal-Faktor	Hepatozyten	5 µg/ml	60 h
Faktor XII	Hageman-Faktor	Hepatozyten	30 µg/ml	50 h
Faktor XIII	Fibrin-stabilisierender Faktor	Hepatozyten	30 µg/ml	50 h
Hochmolekulares Kininogen	Fitzgerald-Faktor	Hepatozyten	80 µg/ml	-
Präkallikrein	Fletcher Faktor	Hepatozyten	30-40 µg/ml	-
Tissue Factor	Gewebe-thromboplastin	Ubiquitär	-	-
Von-Willebrand-Faktor	FVII-assoziertes Antigen	Endothelzellen/Megakaryozyten	10 µg/ml	24 h

Tabelle 5: Gerinnungsfaktoren

Der Blutgerinnungsprozess wird in eine primäre Hämostase und in eine sekundäre Hämostase unterteilt. Bei der primären Hämostase werden die Thrombozyten aktiviert, es kommt zu einer Vasokonstriktion und zu der Aggregation von Thrombozyten. In der

sekundären Hämostase wird das „Leck“ mit Fibrin-Fäden gestärkt, den Abschluss bildet ein Thrombozyten-Fibrin-Komplex.

2.5 Die primäre Hämostase

Nach Endothelverletzungen kommt es zunächst zu einer Adhäsion der Thrombozyten an das Kollagen des Subendothels. Diese Anhaftung wird vor allem durch den von-Willebrand-Faktor (vWF) gewährleistet, der an den Thrombozyten-rezeptor Glykoprotein (GP) Ib/IX/V und an das subendotheliale Kollagen bindet und somit eine molekulare Brücke zwischen diesen beiden Komponenten bildet.

Unmittelbar nach der Adhäsion kommt es zu einer primären Aktivierung der Thrombozyten. Diese Thrombozytenaktivierung bewirkt:

- eine Formänderung der Thrombozyten,
- Plättchendegranulation
- eine Aktivierung des thrombozytären Glykoproteinrezeptors GP IIb/IIIa und
- die Freisetzung von Thromboxan A₂

2.6 Die sekundäre Hämostase

Simultan zur primären Hämostase erfolgt die Aktivierung der sekundären Hämostase. Ohne diese würde es aufgrund der nur vorläufigen Blutstillung durch das recht instabile Thrombozytenaggregat zu Nachblutungen kommen. Eine kaskadenartigen Aktivierung der verschiedenen Gerinnungsfaktoren wird eingeleitet und letztendlich wird Thrombin, das Kardinalenzym der Blutgerinnung, aus Prothrombin gebildet, welches die Bildung des unlöslichen Fibrins aus dem wasserlöslichen Fibrinogen fördert. Das Fibrinnetzwerk stabilisiert den instabilen Thrombozytenthrombus. Die Bildung dieses Gerinnsels dauert circa drei bis fünf Minuten. Dieses Gerinnsel wird aufgrund eingeschlossener Erythrozyten roter Thrombus genannt. Anschliessend decken Fibroblasten die Wundfläche ab.

Die Gerinnungsfaktoren liegen zunächst in einer inaktiven Form im Blut des menschlichen Organismus vor. Durch enzymatische Spaltung oder durch ihre Wirkung als Kofaktor können sich die Gerinnungsfaktoren gegenseitig aktivieren. Dadurch kommt es dann zu einer kaskadenartigen Aktivierung der Gerinnungsfaktoren, man unterscheidet drei hintereinander ablaufende Phasen:

- Aktivierungsphase

- Koagulationsphase
- Retraktionsphase

2.7 Inhibitoren des Gerinnungssystem

Um eine generalisierte Blutgerinnung zu vermeiden, sind physiologische Inhibitoren der Gerinnung notwendig. Die wichtigsten Antikoagulantien sind die in der Leber produzierten Glykoproteine Antithrombin, Protein C und Protein S.

Antithrombin (AT) hemmt Serinproteasen wie Thrombin, FXa, FXIIa, FXIa und FIXa durch Bildung eines 1:1-Komplexes. Diese Affinität des AT zu Thrombin und FXa kann durch Heparin um etwa das 1000-fache beschleunigt werden. Neben einer medikamentösen Substitution des Heparins ist der menschliche Körper ebenfalls in der Lage physiologisch Heparin bereitzustellen. Es wird von basophilen Granulozyten, Mastzellen und vom Endothel sezerniert.

Protein C liegt in einem inaktiven Zustand im Blut vor. Erst mit Hilfe des Thrombins kann es aktiviert werden. Thrombin geht zunächst einen Komplex mit Thrombomodulin ein und wird dadurch selbst inaktiv.²²

Die Inhibitoren der Hämostase sind entscheidend für eine lokale Begrenzung der Blutgerinnung. Bei einem Mangel an AT, Protein C oder Protein S oder mehreren dieser Faktoren ist die Thromboseneigung durch eine fehlende Kontrollierung der Hämostase erhöht.

2.8 Fibrinolyse

Die Fibrinolyse erfolgt durch das proteolytische Enzym Plasmin, das die polymerisierten Fibrinfäden spaltet. Plasmin entsteht aus Plasminogen durch Plasminogenaktivatoren. Es gibt zwei Arten von Aktivatoren: den Gewebetyp (t-PA), der aus Endothelzellen freigesetzt wird, und den Urokinasetyp, der im Plasma als einkettiges Proenzym (scu-PA) vorhanden ist, der nach seiner Aktivierung in ein zweikettiges Molekül (tcu-PA), d.h. Urokinase, umgewandelt wird. T-PA ist ein schwacher Plasminaktivator, jedoch in Anwesenheit von Fibrin steigt seine Aktivität um den Faktor 100. Daher ist die gesamte Plasminogenaktivität durch t-PA innerhalb des Fibringerinnsels lokalisiert. Der dominierende Plasmininhibitor alpha2-Antiplasmin. Er ist ein sehr effizienter Inhibitor und bindet in einem Verhältnis 1:1, so dass freies Plasmin kaum im Plasma auftreten kann. Alpha2-Antiplasmin wird kovalent an Fibrin durch FXIIIa gebunden.

3 Material und Methoden

3.1 Patienten

In der hier vorliegenden, von der Medizinischen Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz (Nr.20-182 ex 08/09) zugelassenen Studie, wurden 34 Patienten erfasst. Die Diagnose der pAVK wurde bei den Patienten in der Ambulanz der Klinischen Abteilung für Angiologie der Medizinischen Universität Graz gestellt. Die Patienten wurden mittels physikalischer Untersuchung, ABI und Duplex-Sonographie untersucht. Weiters wurde die Anamnese der Patienten mit einem standardisierten Fragenkatalog erhoben. Es wurden bei den Patienten auch die kardiovaskulären Risikofaktoren und Komorbiditäten untersucht. Morphologische Veränderungen der peripheren Gefäße wurden mittels Magnetresonanzangiographie bestätigt und die anschließende EVR bei den Patienten geplant. Für die Stentimplantation wurde ein standardisiertes Protokoll benutzt. Alle in der Studie eingeschlossenen Patienten wurden mit selbstexpandierenden Nitinol-Stents der Firma Abbot-Vascular. Behandelt. Nur Patienten mit einer Stentimplantation in der AFS wurden in diese Studie eingeschlossen. Während der Intervention wurden 300 IU unfraktioniertes Heparin verabreicht, um einen sofortigen Stentverschluß zu vermeiden. Nach dem Verfahren wurden die Patienten mit niedermolekularem Heparin (Enoxaparin 40 mg alle 12 Stunden) für 48 Stunden behandelt, um einem Stentfrühverschluß vorzubeugen. Für alle Eingriffe wurde das Kontrastmittel „Iomeron“ verwendet. Die Lokalisation, das Ausmaß und die Morphologie der Stenose sowie der Okklusion wurden genau dokumentiert, 24 Stunden nach der Stentimplantation wurde eine Duplex-Sonographie durchgeführt, um einen Stentfrühverschluß zu detektieren. Ein solcher wurde bei unseren Patienten nicht beobachtet. Alle Patienten erhielten eine antithrombotische Medikation mit 100 mg ASS vor der Intervention und 100 mg ASS und 75 mg Clopidogrel nach der Stentimplantation für 3 Monate. Nach 3 Monaten wurde die thrombozytenfunktionshemmende Therapie der Patienten auf unbestimmte Zeit mit 100 mg ASS fortgesetzt. Für unsere Studie wurden die Patienten in einem Zeitraum von 12 bis 14 Monaten nach der Stentimplantation untersucht. Es wurde die Instenstenose und wenn vorhanden deren Grad in % mittels Duplex-Sonographie beurteilt und es wurde auch Blut bei den Patienten abgenommen. Bei 14 Patienten trat nach stattgehabter endovaskulärer Therapie nur eine geringgradige Reobstruktion (Lumenverengung <50%) der behandelten Gefäßabschnitten auf (Gruppe 1), bei 20

Patienten kam es zu einer hochgradigen Reobstruktion (Lumenverengung >50%, Gruppe 2). Zur Messung der Thrombozytenfunktion bzw. der Thrombelastometrie wurde den Patienten 4 mL Blut entnommen und diese mit 0,5 mL vorgelegter Zitratlösung (3,8%) in Vacuette™ Röhrchen von Greiner Bio-one GmbH (Kremsmünster, Austria) durch sanftes Schwenken vermischt. Ein Aliquot dieses Zitratblutes wurde verwendet, um mittels Sysmex KX-21N Automated Hematology Analyzer von Sysmex (Mundelein, Ill., USA) die Anzahl der roten und weißen Blutzellen sowie die Thrombozytenzahl zu bestimmen. Der Rest des Zitratblutes wurde für die Thrombelastometrie und für die Messung sowohl der Thrombozytenaggregation wie auch die –adhäsion verwendet. Die Patientencharakteristika sind in Tabelle 6 aufgelistet:

	Gesamtkohorte (n=34)	Stentobstruktion <50% (n=14)	Stentobstruktion >50% (n=20)
Männer n(%)	21(62)	9(64)	12(57)
Alter in Jahren mean(SD)	72.0(10.9)	73.7(9.4)	70.9(11.9)
Clinical Characteristics			
Current smoker n(%)	5(14.7)	2(14.3)	3(15)
Hypertension n(%)	29(85.3)	13(92.9)	16(80)
Diabetes n(%)	16(47.1)	7(50)	9(45)
BMI mean(SD)	27.6(3.3)	27.9(3.6)	27.4(3.2)
Begleittherapie			
Statintherapie n(%)	24(70.6)	11(78.6)	13(65)
B-Blockertherapie n(%)	18(52.9)	8(57.1)	10(50)
PPI Therapie n(%)	16(47.1)	5(35.7)	11(55)
Interveniertes AFS-Segment			
AFS Segment I n(%)	1(2.9)	0	1(5)
AFS Segment II n(%)	10(29.4)	4(28.6)	6(30)
AFS Segment III n(%)	23(67.6)	10(71.4)	13(65)

Verschuß vor Intervention n(%)	17(50)	7(50)	10(50)
Länge der Läsion vor Intervention in mm mean(SD)	79.1(57.5)	80(69.2)	78.5(49.7)
Länge des verwendeten Stents in mm mean(SD)	69.1(31.8)	75.7(37.4)	64.5(27.4)

Tabelle 6: Patientencharakteristika

3.2 Messmethoden

3.2.1 Thrombelastometrie

Alle Thrombelastometrie-Messungen wurden am ROTEM 05 Vollblut-Hämostase-System von Matel Medizintechnik (Graz, Austria) durchgeführt (Abbildung Z). Es misst die viskoelastischen Eigenschaften der in-vitro ablaufenden Blutgerinnung der Vollblutprobe.



Abbildung 2: ROTEM 05 Vollblut-Hämostase-System von Matel Medizintechnik, Graz, Austria.

Die Thromboelastographie ermöglicht eine grafische Aufzeichnung der Festigkeit eines Blutgerinnsels während dessen Bildung und der darauffolgenden Lyse mittels der Parameter: Gerinnungszeit (CT, coagulation time), Gerinnselbildungszeit (CFT, clot formation time) und maximale Gerinnselhaftigkeit (MCF, maximum clot firmness) und alpha-Winkel. Das ROTEM 05 verfügt über eine computergesteuerte elektronische Pipette und ist durch ein robustes Bauwerk weitestgehend unempfindlich gegenüber Erschütterungen und daher auch transportabel. Es verfügt über vier Kanäle, die mehrere parallele Messungen ermöglichen. Neben der Diagnose von Zitrat-Vollblut (verwendet in der hier vorliegenden Studie) kann das ROTEM 05 auch zur Diagnose von Vollblut und Citrat-Plasma verwendet werden.

Das Ergebnis der Rotationsthromboelastometrie wird als Kurve über die Zeit aufgezeichnet und auf dem Monitor des Computers in Form von Diagrammen und Messwerten dargestellt. Man bezeichnet dies als Thromboelastogramm. Das ROTEM 05 besteht aus einer fixierten Küvette (Cup), in dem sich ein Stempel alternierend um

4,75° mit Hilfe einer Federführung dreht. Die Bewegungen dieses Stempels werden durch ein optisches Detektionssystem erfasst und mittels spezifischer Software und einem Computer weiter verarbeitet. Nach Eintritt der Gerinnung bilden sich Gerinnungsfäden zwischen dem Stempel und der Wand des Cups und behindern dadurch die Bewegungen des Stempels. Das ROTEM 05 wandelt die Rotationsbewegung des Stempels in eine Amplitude um. Diese stellt ein Maß für die Festigkeit des Blutgerinnsels dar, wobei man per definitionem bei einer Amplitude von null Millimetern (Gerinnungsprozess noch nicht eingesetzt) von einer freien Beweglichkeit des Stempels spricht und bei einer Amplitude von einhundert mm (maximal erreichbare Festigkeit des Gerinnsels) eine Blockierung des Stempels vorliegt. ROTEM 05 misst mehrere Parameter, die Rückschlüsse auf die Gerinnungsfähigkeiten des Blutes zulassen. Die maximale Amplitude der Stempelbewegung gibt die maximale Festigkeit des Gerinnsels an. Diese wird als maximum clot firmness (MCF) bezeichnet. Die Coagulation Time beziehungsweise die Gerinnungszeit (CT) ist definiert als der Zeitraum zwischen Zugabe eines Gerinnungsaktivators und dem Beginn der Gerinnselbildung. Ein weiterer wichtiger Parameter ist die clot formation time beziehungsweise Gerinnselbildungszeit (CFT). Hiermit wird die Zeitspanne zwischen Beginn der Gerinnselbildung und dem Erreichen einer 20-mm-Amplitude beschrieben. Der alpha-Winkel ergibt sich durch den Winkel zwischen der Mittellinie und einer Tangente an die Kurve durch den 2mm-Amplituden-Punkt. Er beschreibt die Kinetik der Gerinnselentstehung.

Abbildung 3 stellt die einzelnen Messparameter bildlich dar.

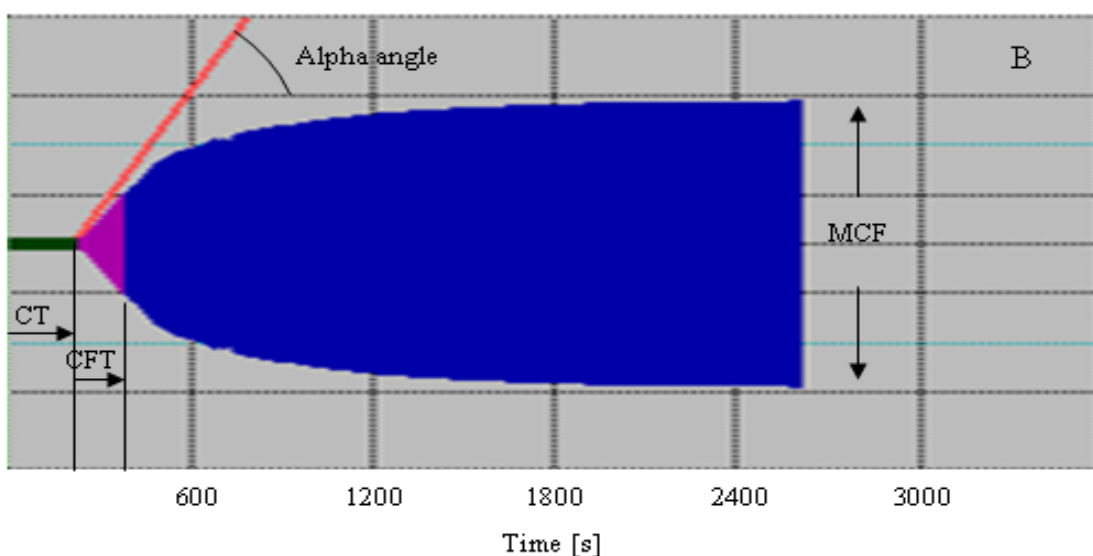


Abbildung 3 - Darstellung der einzelnen Messparameter des ROTEM 05

Heutzutage gilt das ROTEM 05 als Point-of-Care-Methode zur Diagnose von Hämostasestörungen.

3.2.1.1 Praktische Durchführung:

Das Probenvolumen beträgt 340 μL . Mittels einer elektronischen Pipette wurden 300 μL Zitrat-Vollblut in eine vorgeheizte Einweg-Küvette pipettiert. Anschließend erfolgte durch Zugabe von 40 μL Aktivierungslösung (enthielt folgende Endkonzentrationen: 3,5 $\mu\text{g/mL}$ Kollagen, 0,35 pmol/L Tissue Factor, 3 mmol/L Kalziumchlorid) die Aktivierung der Proben.

3.2.2 Thrombozytenaggregation

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurde die Thrombozytenaggregation in Zitrat-Vollblut mittels Impedanzmethode gemessen. Es wurde das Vollblut-Aggregometer „Chrono-Log Whole Blood Aggregometer Model 590“ von Probe & Go (Endingen, Deutschland) verwendet, siehe Abbildung 4:



Abbildung 4: Vollblutaggregometer (Modell 590-2D) von der Firma Probe & Go Labordiagnostica GmbH

Ein kleiner elektrischer Strom fließt durch zwei Platinelektroden. Noch vor Zugabe eines Agonisten legt sich ein „Monolayer“ an Thrombozyten an den beiden Elektroden an. Nach Zugabe des Agonisten aggregieren weitere Plättchen indem sie sich an den

„Monolayer“ anlagern. Der durch die beginnende Aggregation bedingte Impedanzanstieg ist direkt proportional der an den Platinelektroden immobilisierten Masse an Thrombozyten. Abbildung 5 zeigt eine typische Kurve:

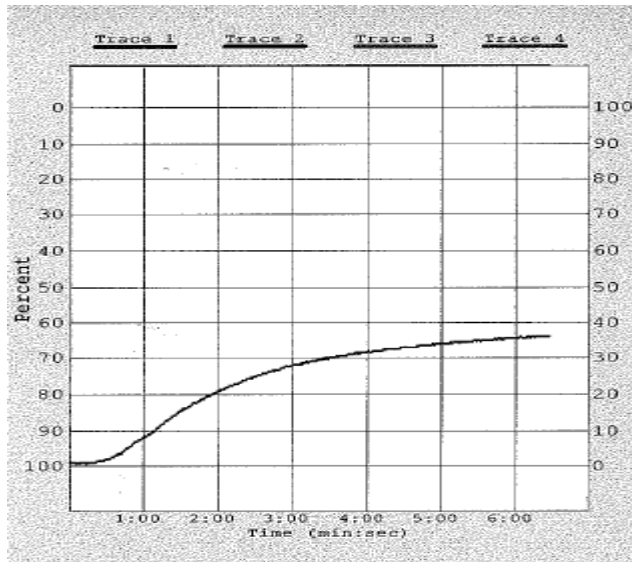


Abbildung 5: Typische Aggregationskurve am Vollblutaggregometer

Man erhält folgende Parameter (siehe Abbildung 6): „Amplitude“ [Ohm], gibt die maximale Aggregation an. Sie wird 6 Minuten nach Zugabe des Agonisten gemessen; „Lag Time“ [min], das Zeitintervall zwischen Zugabe des Agonisten und dem Beginn der Aggregation (Beginn des Impedanzanstieges); die Geschwindigkeit der Aggregation wird als „Slope“ [Ohm/min] angegeben und wird aus der Tangente durch den steilsten Punkt der Aggregationskurve ermittelt.

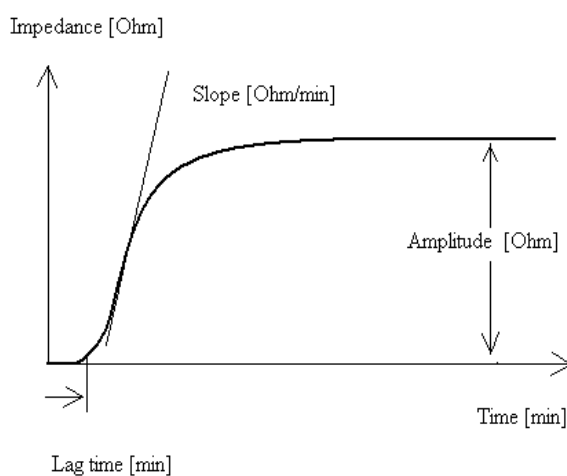


Abbildung 6: die aus der Aggregationskurve abgeleiteten Parameter Amplitude, Lag Time und Slope.

3.2.2.1 Praktische Durchführung:

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurden drei verschiedene Plättchen-Agonisten verwendet.

3.2.2.1.1 Kollagen-induzierte Aggregation:

Fünf hundert μL Vollblut wurden mit 500 μL NaCl-Lösung verdünnt. Die Thrombozytenaggregation wurde durch Zugabe von 3,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Kollagen (Endkonzentration) ausgelöst.

3.2.2.1.2 Endogenes Thrombin-induzierte Aggregation:

Drei hundert μL Vollblut wurden mit 660 μL NaCl-Lösung verdünnt. Die Thrombozytenaggregation wurde durch Zugabe von 40 μL „Reaktionslösung“ initiiert. Die Reaktionslösung enthielt: 0,35 pmol/L Tissue Factor, 3 mmol/L Kalziumchlorid und 8 mmol/L des Fibrinpolymerisationshemmers GPRP (alles Endkonzentrationen). Bei dieser Art von Aktivierung wird durch Zugabe von Tissue Factor und Kalziumchlorid die plasmatische Gerinnungskaskade stimuliert mit der finalen Produktion von Thrombin. Dieses „endogen“ gebildete Thrombin ist der in-vivo effizienteste Plättchenaktivator.

3.2.2.1.3 Kollagen/endogenes Thrombin-induzierte Aggregation:

Drei hundert μL Vollblut wurden mit 660 μL NaCl-Lösung verdünnt. Die Thrombozytenaggregation wurde durch Zugabe von 40 μL „Reaktionslösung“ initiiert. Die Reaktionslösung enthielt: 3,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Kollagen, 0,35 pmol/L Tissue Factor, 3 mmol/L Kalziumchlorid und 8 mmol/L des Fibrinpolymerisationshemmers GPRP (alles Endkonzentrationen). Bei dieser Art von Aktivierung wird die Plättchenaggregation durch eine Kombination von Kollagen und endogenem Thrombin ausgelöst.

3.2.3 Plättchenadhäsion

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurde die Plättchenadhäsion mittels “Cone and Plate Analyser (Impact-R)” von DiaMed Haemostasis AG, Linz, Austria, bestimmt.



Abbildung 7: Impact-R Cone and Plate Analyzer

Das Gerät prüft die Plättchenadhäsion im antikoagulierten Vollblut (Zitratpuffer) unter arterieller Flussgeschwindigkeit (1800 s^{-1} für 2 min). Dabei wird der laminare Fluss auf der Oberfläche des Polystyrolwells durch das Cone-and-Plate-Prinzip erreicht.

Die praktische Durchführung der Messung ist in Abbildung 8 schematisch dargestellt:

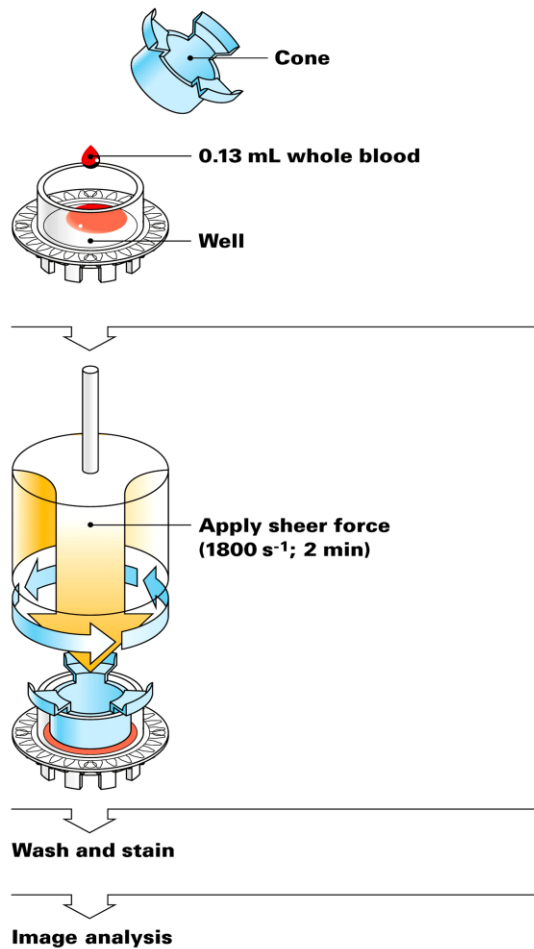


Abbildung 8: Durchführung der Messung am Impact-R

Nach Zugabe der Blutprobe (130 μL) in das Polystyrolwell haften Plasmaproteine unmittelbar an der Welloberfläche und ermöglichen eine Plättchenadhäsion an der Welloberfläche unter Flussbedingungen. Überschüssiges Blut wird anschließend abgewaschen und die angehafteten Plättchen mit May-Grünwald-Lösung angefärbt, sodass das Ergebnis dann mit einem Bildanalysegerät quantitativ ausgewertet werden kann.

Als Parameter für die Plättchenadhäsion werden die Ergebnisse in Prozent der Welloberfläche angegeben, die durch Plättchenaggregate bedeckt ist (Prozent SC, Surface coverage), während die durchschnittliche Größe der Aggregate (AS in μm^2 , Average Size) ein Parameter für die Plättchenaggregation ist.

3.2.4 Statistische Auswertung

Die statistischen Auswertungen wurden mit Hilfe des Computerprogramms SPSS (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) vorgenommen. Korrelationen zwischen Variablen wurden mittels Spearman's coefficient of correlation (r) bestimmt. Als statistisch signifikant wurde ein r-Wert $>0,7$ angenommen. Gruppenvergleiche wurden mittels Wilcoxon-Test und Mann-Whitney U-Test vorgenommen. Ein P-Wert $<0,05$ wurde als Kriterium für statistische Signifikanz herangezogen.

4 Ergebnisse

4.1 Thrombelastometrie-Parameter von Patienten mit schwacher Reobstruktion (Gruppe 1) vs. Patienten mit starker Reobstruktion (Gruppe 2)

Die Ergebnisse der Thrombelastometrie-Messungen sind in Tabelle 1 aufgelistet:

Patient Nr.	Gruppe	Thrombelastometrie			
		CT [s]	CFT [s]	MCF [mm]	alpha [°]
1	2	347	118	61	67
2	2	344	94	67	72
3	2	387	129	65	67
4	1	449	196	56	55
5	2	399	164	55	59
6	2	385	117	63	66
7	2	388	118	61	67
8	2	429	158	56	60
9	2	360	116	62	67
10	1	348	97	63	70
11	1	340	114	63	67
12	1	468	122	65	66
13	2	440	122	66	66
14	2	477	134	59	64
15	2	261	213	59	56
16	2	392	146	58	62
17	1	513	203	62	54

18	2	440	113	63	68
19	1	572	415	41	34
20	1	514	357	49	38
21	2	264	101	72	70
22	2	374	155	58	60
23	1	464	225	57	50
24	2	293	130	63	65
25	2	394	186	55	56
26	2	314	87	70	73
27	2	335	135	57	64
28	1	450	178	55	58
29	2	412	146	58	62
30	1	387	116	63	67
31	1	370	119	69	68
32	1	436	179	57	57
33	1	370	169	54	59
34	1	353	124	64	66

Tabelle 7: Thrombelastometrie-Parameter Gruppe 1 vs. Gruppe 2

4.2 Coagulation Time (CT) in Gruppe 1 vs. Gruppe 2

Patienten mit schwacher Reobstruktion hatten eine signifikant längere CT als Patienten mit starker Reobstruktion ($430,9 \pm 72,0$ vs. $371,8 \pm 58,0$ s; $P = 0,012$). Diese Ergebnisse sind in Abbildung 9 grafisch dargestellt:

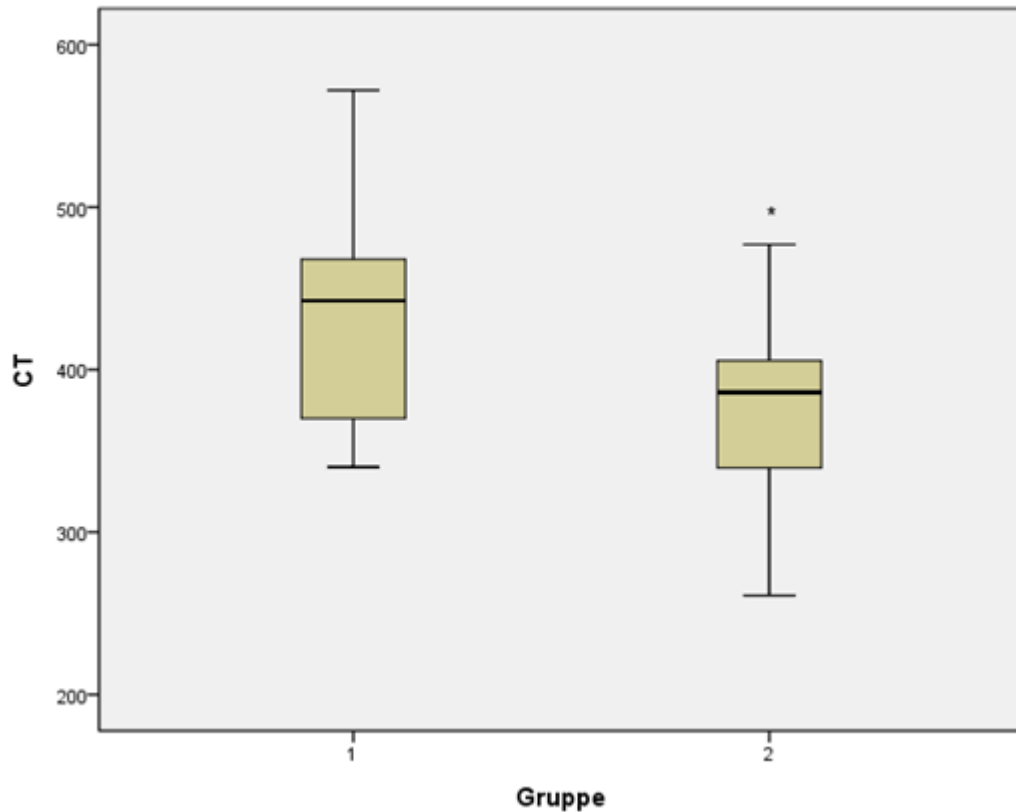


Abbildung 9: Boxplot der CT-Werte im Gruppenvergleich

Die ROC-Kurvenanalyse ergab für einen Trennwert von 444,5 s eine Sensitivität von 95% (area index = 0,702). D.h., dass Patienten mit Coagulation Times kürzer als 444,5 s mit hoher Wahrscheinlichkeit der Gruppe 2 zugeordnet werden können, also jener Gruppe von Patienten mit aktiviertem Gerinnungssystem und der damit verbundenen Tendenz zu hohen Reobstruktionsraten bei Stents im Bereich der Arteria femoralis superficialis.

4.3 Clot formation time in Gruppe 1 vs. Gruppe 2

Es wurden keine signifikanten Unterschiede im Gruppenvergleich gefunden ($186,71 \pm 93,82$ vs. $134,10 \pm 30,61$ s, $P = 0,097$). Die Ergebnisse sind in Abbildung 10 grafisch dargestellt:

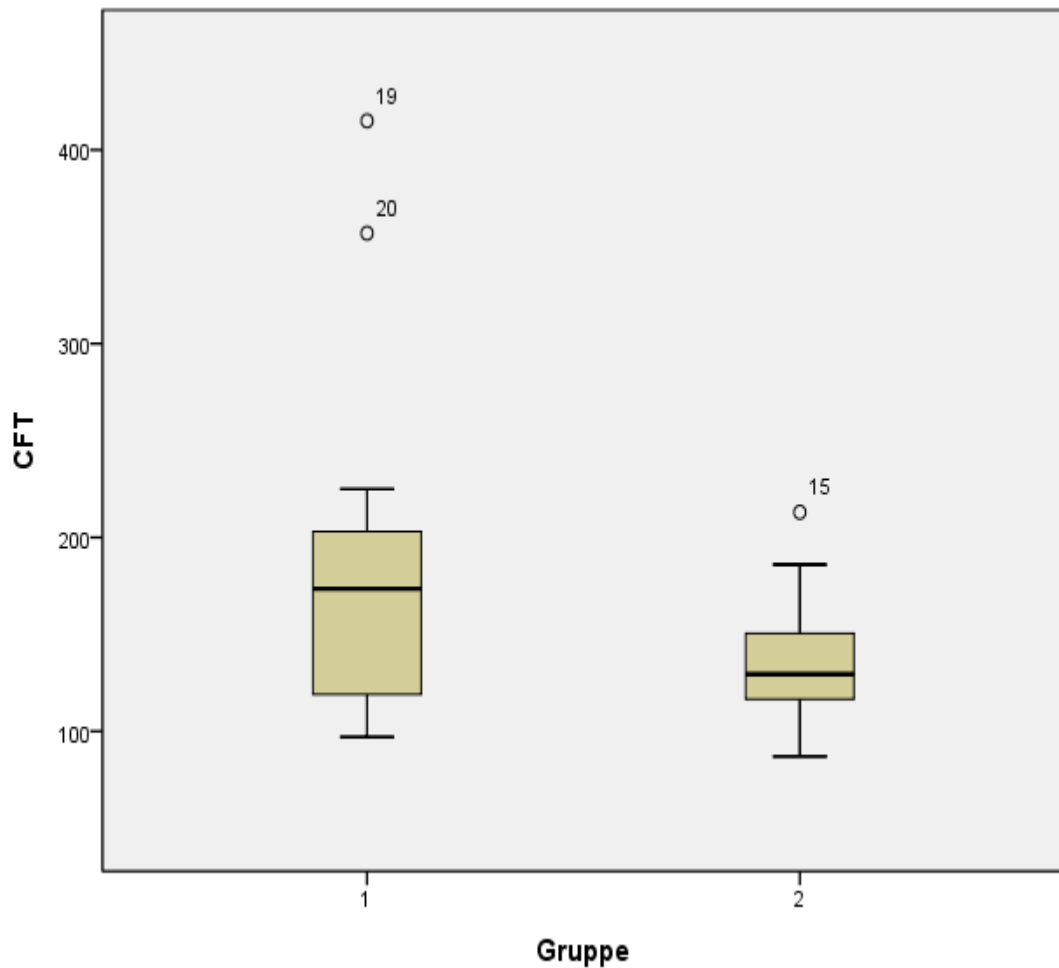


Abbildung 10: Boxplot der CFT-Werte im Gruppenvergleich

4.4 Maximum clot firmness (MCF) in Gruppe 1 vs. Gruppe 2

Es wurden keine signifikanten Unterschiede im Gruppenvergleich gefunden ($58,43 \pm 7,31$ vs. $61,40 \pm 4,80$ s, $P = 0,164$). Die Ergebnisse sind in Abbildung 11 grafisch dargestellt:

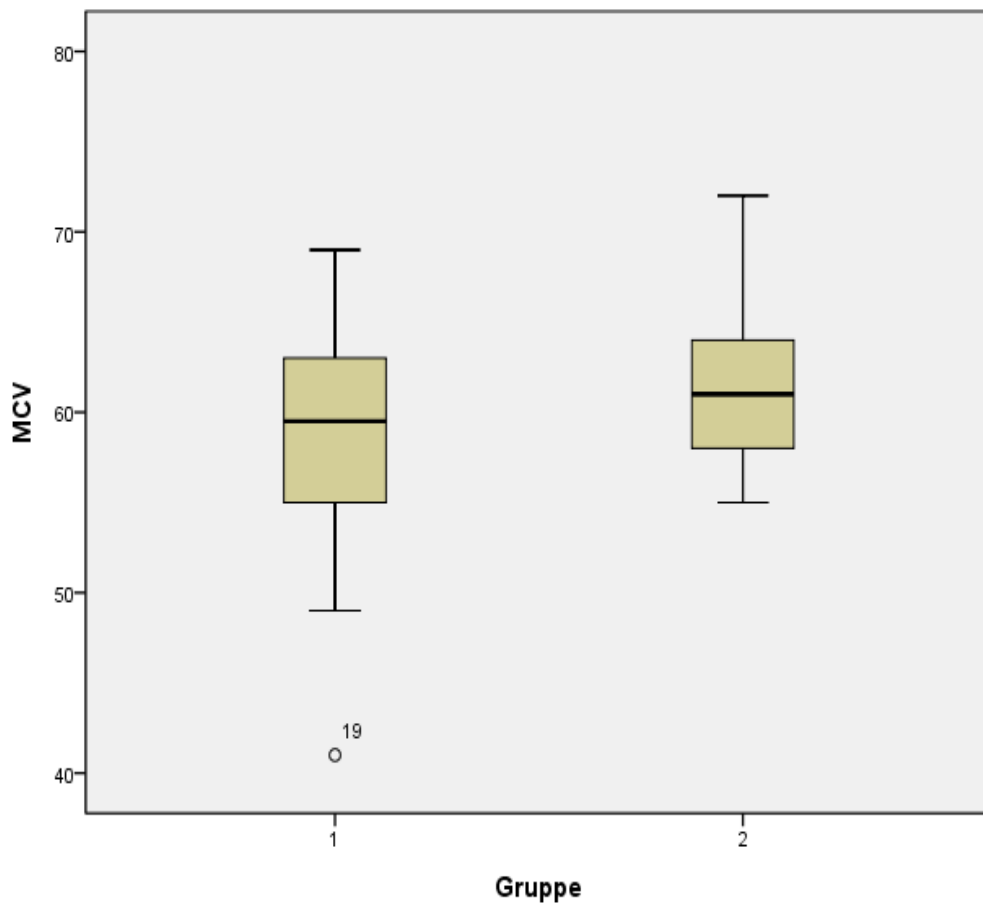


Abbildung 11: Boxplot der MCF-Werte im Gruppenvergleich

4.5 Alpha-Winkel in Gruppe 1 vs. Gruppe 2

Patienten mit schwacher Reobstruktion hatten einen signifikant kleineren alpha-Winkel als Patienten mit starker Reobstruktion ($57,79 \pm 11,10$ vs. $64,55 \pm 4,75^\circ$, $P = 0,045$). Die Ergebnisse sind in Abbildung 12 grafisch dargestellt:

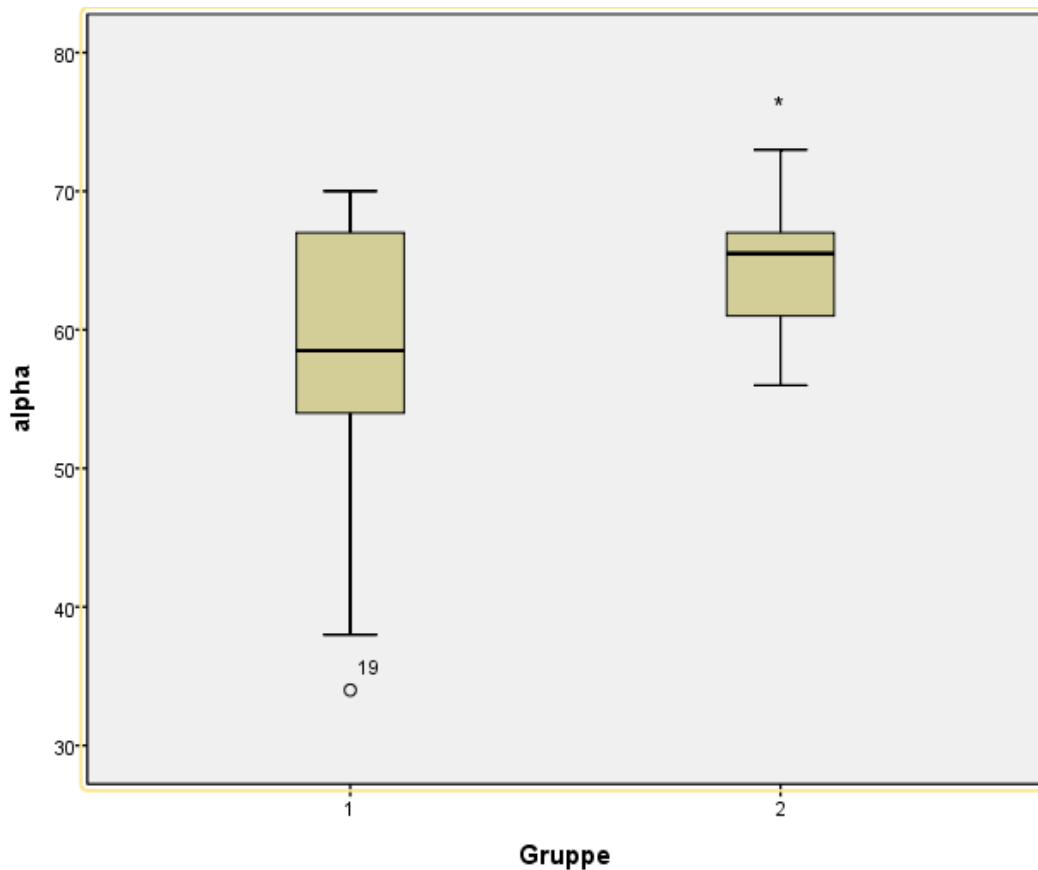


Abbildung 12: Boxplot der Alpha-Werte im Gruppenvergleich

4.6 Thrombozytenaggregations-Parameter von Patienten mit schwacher Reobstruktion (Gruppe 1) vs. Patienten mit starker Reobstruktion (Gruppe 2)

Die Ergebnisse der Vollblut-Aggregationsmessungen sind in Tabelle 2 aufgelistet:

Patient Nr.	Grp.	Aggregometrie (Kollagen-Aktivierung)			Aggregometrie (TF-Aktivierung)			Aggregometrie (TF/Coll-Aktivierung)		
		Amplitude [Ohm]	Slope	Lag Time [s]	Amplitude [Ohm]	Slope	Lag Time [s]	Amplitude [Ohm]	Slope	Lag Time [s]
1	2	7	3	90				10	6	161
2	2	15	9	64				11	9	60
3	2	14	7	76				13	9	55
4	1	11	5	92	8	4	86	10	4	66
5	2	6	3	112	5	2	43	10	6	93
6	2	12	4	104	16	7	36	13	5	90
7	2	4	2	128	10	7	52	10	7	184
8	2	4	2	130	10	13	112	8	4	126
9	2	13	6	89	12	7	36	16	10	76
10	1	13	7	98	13	8	25	15	12	75
11	1	8	4	110	13	10	38	11	9	128
12	1	11	7	100	10	7	63	10	7	64
13	2	5	2	112	10	7	44	10	7	138
14	2	2	2	267	6	4	153	4	7	168
15	2	4	4	181	14	7	52	12	5	74
16	2	7	4	141	12	6	54	11	5	150
17	1	4	2	172	14	8	46	11	7	95
18	2	12	5	102	9	4	49	9	4	92
19	1	7	4	120	9	4	55	9	3	89
20	1	7	4	142	11	7	58	9	8	122
21	2	16	12	48	0	1	0	2	2	48
22	2	9	4	120	14	7	29	11	5	110
23	1	6	3	113	14	7	30	12	7	90

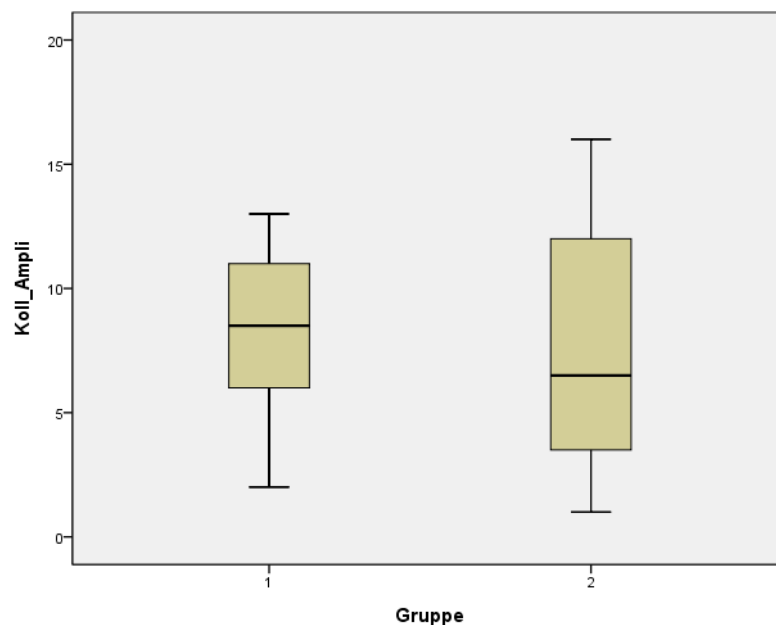
24	2	3	2	120	13	10	42	13	10	83
25	2	1	2	316	8	7	61	6	3	138
26	2	10	4	90	12	10	22	14	11	78
27	2	3	2	168	9	6	43	12	7	65
28	1	6	3	140	8	3	58	6	3	110
29	2	3	3	194	11	4	42	12	5	40
30	1	12	9	80	13	9	79	13	9	40
31	1	9	6	74	14	10	29	17	10	54
32	1	9	5	73	6	3	56	10	7	72
33	1	2	2	184	3	2	125	4	2	150
34	1	10	6	81	12	9	80	14	7	86

Tabelle 8: Vollblut-Aggregometrie-Parameter Gruppe 1 vs. Gruppe 2

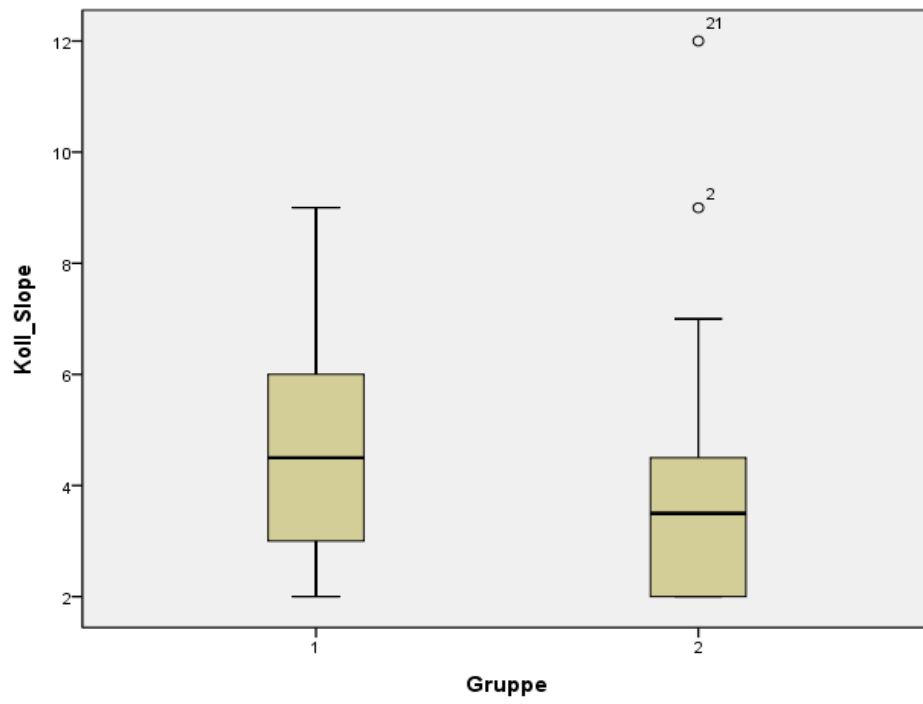
4.7 Kollagen-induzierte Aggregometrie-Parameter in Gruppe 1 vs. Gruppe 2

Für alle drei Parameter Amplitude ($8,21 \pm 3,12$ vs. $7,50 \pm 4,75$ Ohm; $P > 0,05$), Slope ($4,79 \pm 2,05$ vs. $4,10 \pm 2,65$ Ohm/min; $P > 0,05$) und Lag Time ($112,79 \pm 35,32$ vs. $132,60 \pm 65,97$ s; $P > 0,05$) wurden im Gruppenvergleich keine signifikanten Unterschiede gefunden. Die Messergebnisse sind in Abbildung 13 (A-C) grafisch dargestellt:

A:



B:



C:

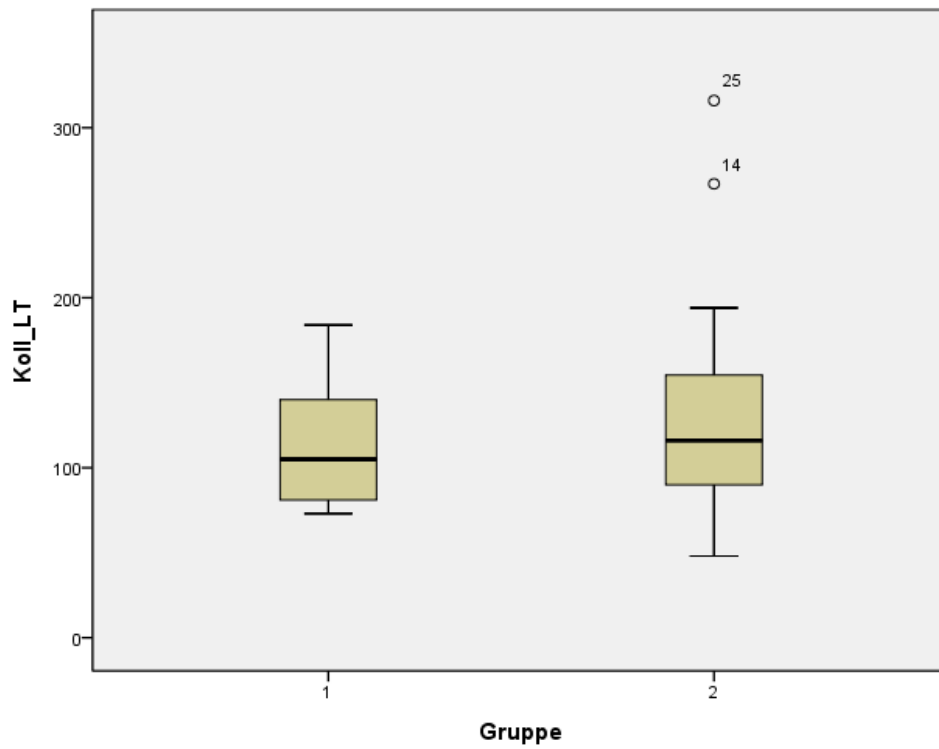


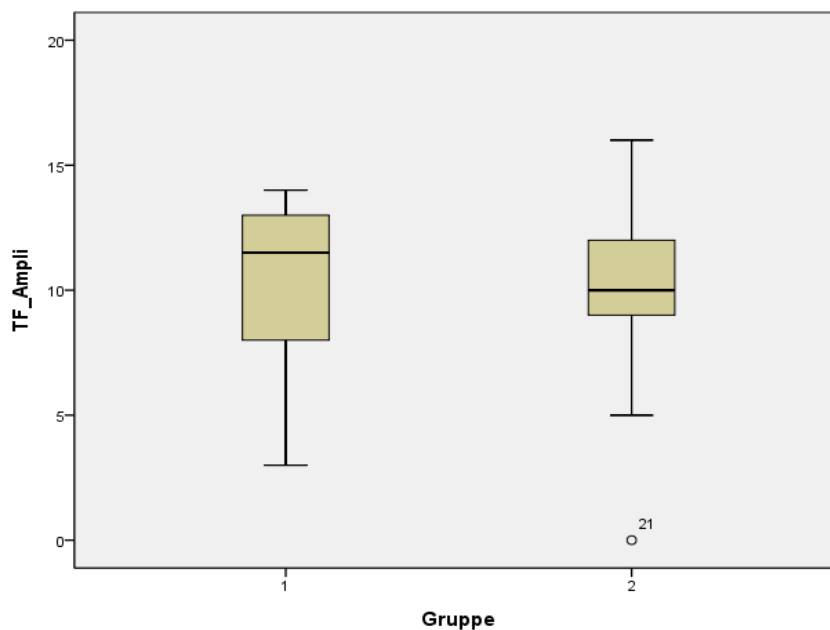
Abbildung 13: Parameter der Kollagen-induzierten Vollblut-Aggregometrie. Panel A: Amplitude [Ohm]; Panel B: Slope [Ohm/min]; Panel C: Lag Time [s].

4.8 Tissue Factor-induzierte Aggregometrie-Parameter in Gruppe 1 vs. Gruppe 2

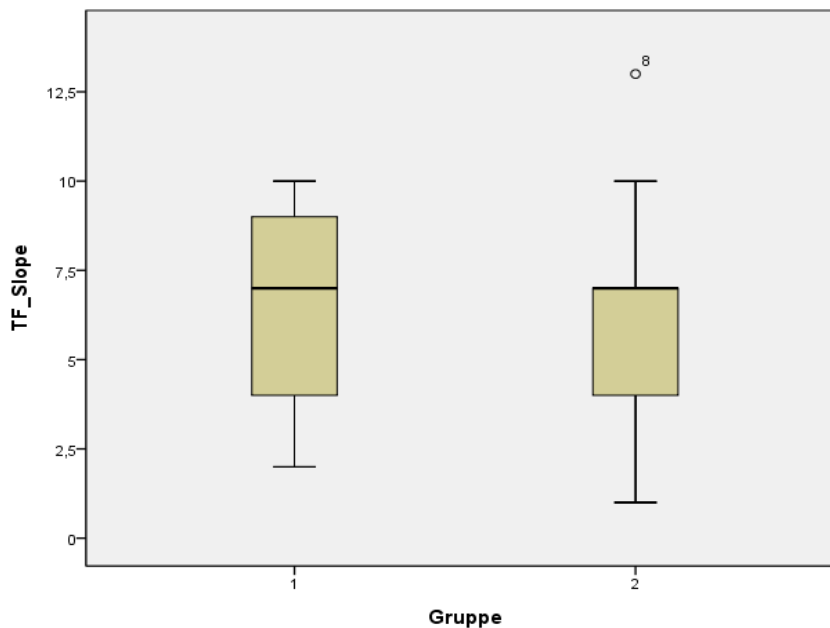
Für alle drei Parameter Amplitude ($10,57 \pm 3,39$ vs. $10,06 \pm 3,85$ Ohm; $P > 0,05$), Slope ($6,50 \pm 2,77$ vs. $6,41 \pm 2,94$ Ohm/min; $P > 0,05$) und Lag Time ($59,14 \pm 27,00$ vs. $51,18 \pm 34,42$ s; $P > 0,05$) wurden im Gruppenvergleich keine signifikanten Unterschiede gefunden.

Die Messergebnisse sind in Abbildung 14 (A-C) grafisch dargestellt:

A:



B:



C:

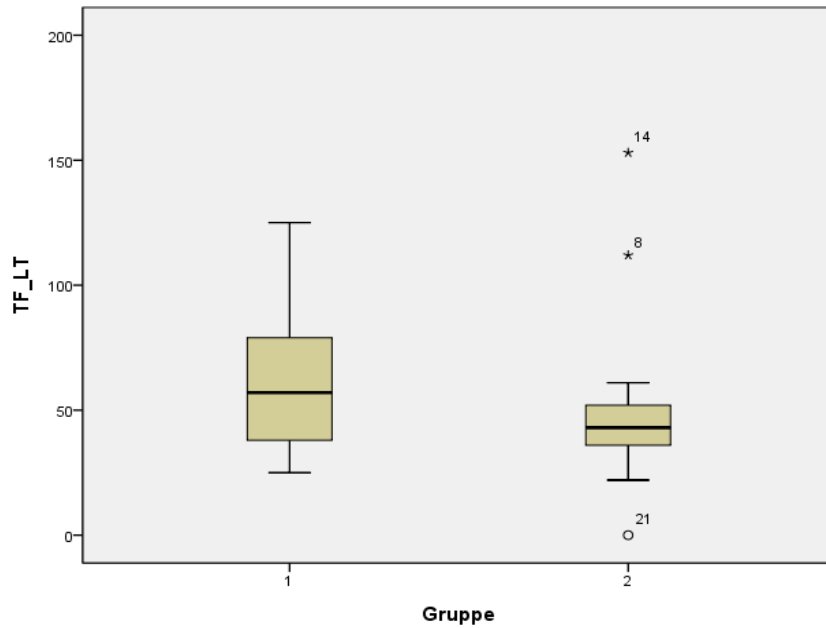
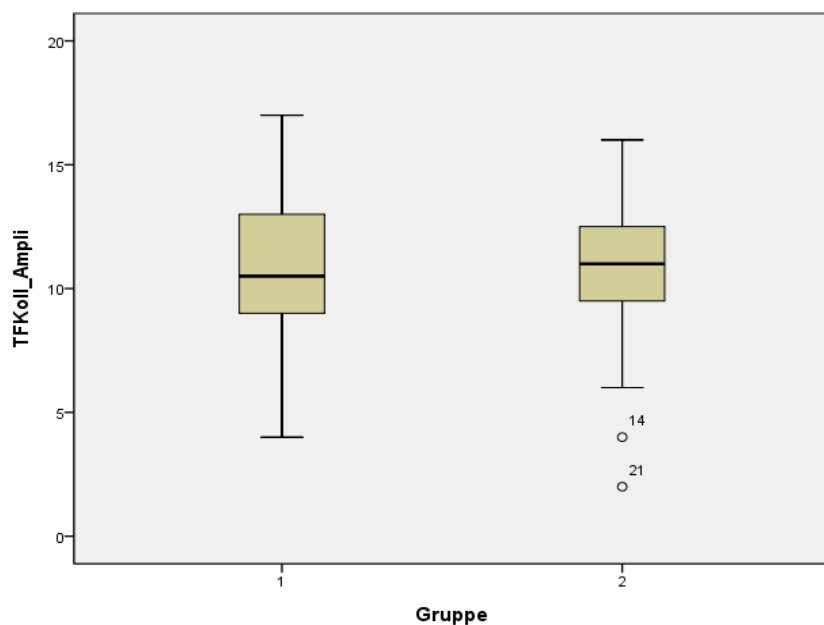


Abbildung 14: Parameter der Tissue Factor-induzierten Vollblut-Aggregometrie. Panel A: Amplitude [Ohm]; Panel B: Slope [Ohm/min]; Panel C: Lag Time [s].

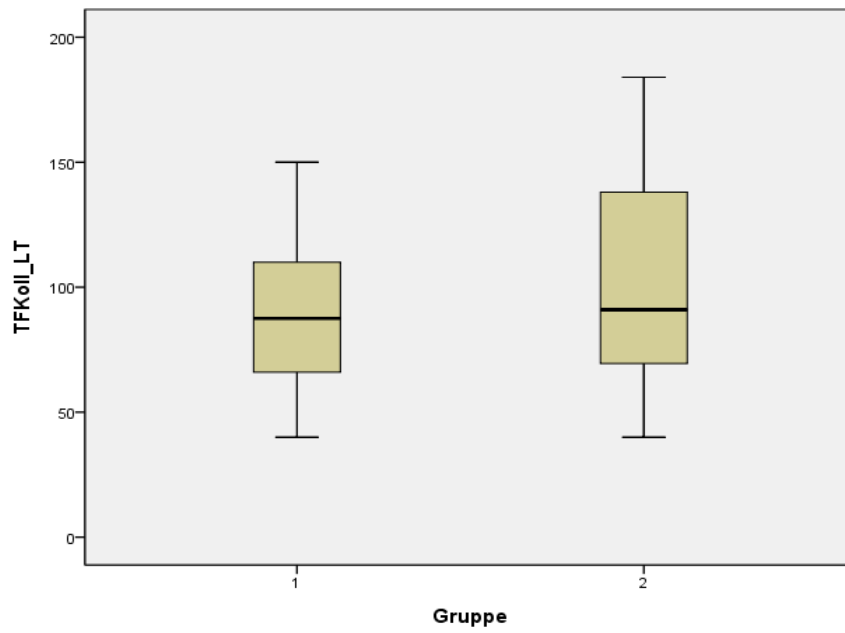
4.9 Kollagen/Tissue Factor-induzierte Aggregometrie-Parameter in Gruppe 1 vs. Gruppe 2

Für alle drei Parameter Amplitude ($10,79 \pm 3,40$ vs. $10,35 \pm 3,35$ Ohm; $P > 0,05$), Slope ($6,79 \pm 2,89$ vs. $6,35 \pm 2,64$ Ohm/min; $P > 0,05$) und Lag Time ($88,64 \pm 30,49$ vs. $101,45 \pm 42,87$ s; $P > 0,05$) wurden im Gruppenvergleich keine signifikanten Unterschiede gefunden. Die Messergebnisse sind in Abbildung 15 (A-C) grafisch dargestellt:

A:



B:



C:

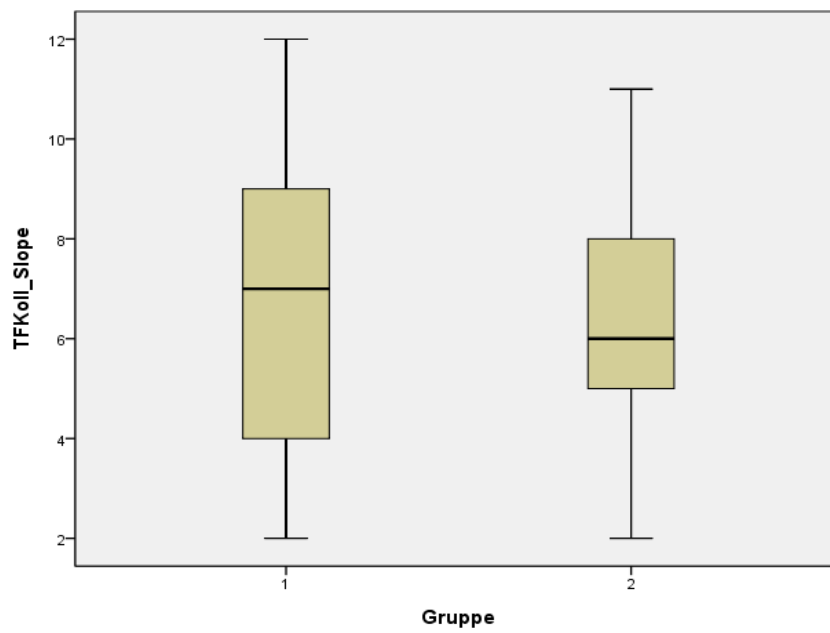


Abbildung 15: Parameter der Kollagen/Tissue Factor-induzierten Vollblut-Aggregometrie. Panel A: Amplitude [Ohm]; Panel B: Slope [Ohm/min]; Panel C: Lag Time [s].

4.10 Thrombozytenadhäsions-Parameter von Patienten mit schwacher Reobstruktion (Gruppe 1) vs. Patienten mit starker Reobstruktion (Gruppe 2)

Die Ergebnisse der Vollblut-Adhäsionsmessungen sind in Tabelle 3 aufgelistet:

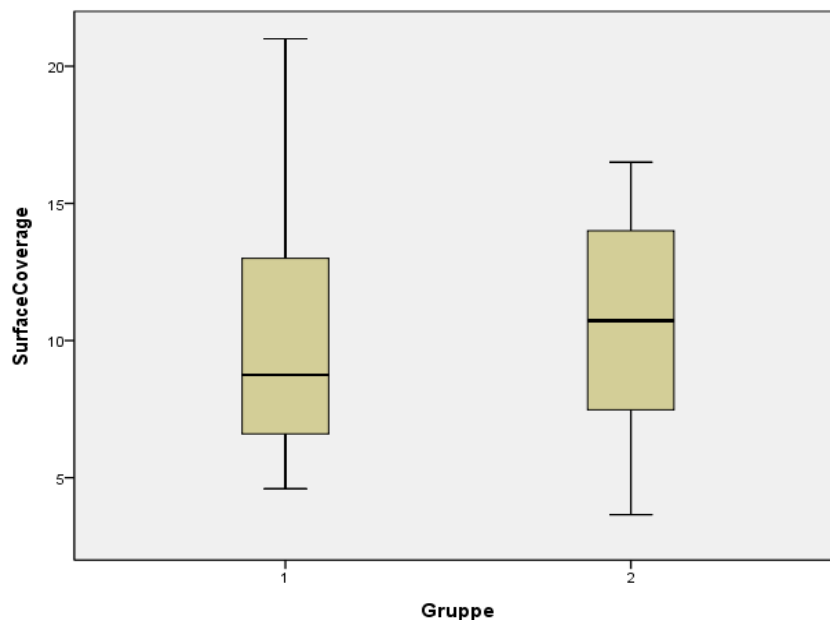
Patient Nr.	Gruppe	Adhäsion		
		Surface Coverage [SC, %]	Average Size [μm^2]	Objects
1	2	12	36	1816
2	2	6	24	1498
3	2	7	32	1250
4	1	7	27	1387
5	2	17	86	1315
6	2	12	54	1561
7	2	14	42	1893
8	2	11	39	1654
9	2	10	41	1511
10	1	5	24	1088
11	1	9	27	1838
12	1	10	32	1726
13	2	10	29	1966
14	2	4	23	898
15	2	9	35	1527
16	2	6	25	1299
17	1	5	23	1252
18	2	12	33	2050
19	1	18	47	2338
20	1	13	38	2002
21	2	15	35	2370
22	2	15	82	1206
23	1	21	59	2064
24	2	14	43	1851
25	2	6	27	1344

26	2	16	45	2013
27	2	9	30	1720
28	1	8	36	1305
29	2	8	27	1686
30	1	5	24	1069
31	1	14	44	1833
32	1	10	40	1430
33	1	7	39	1013
34	1	9	33	1455

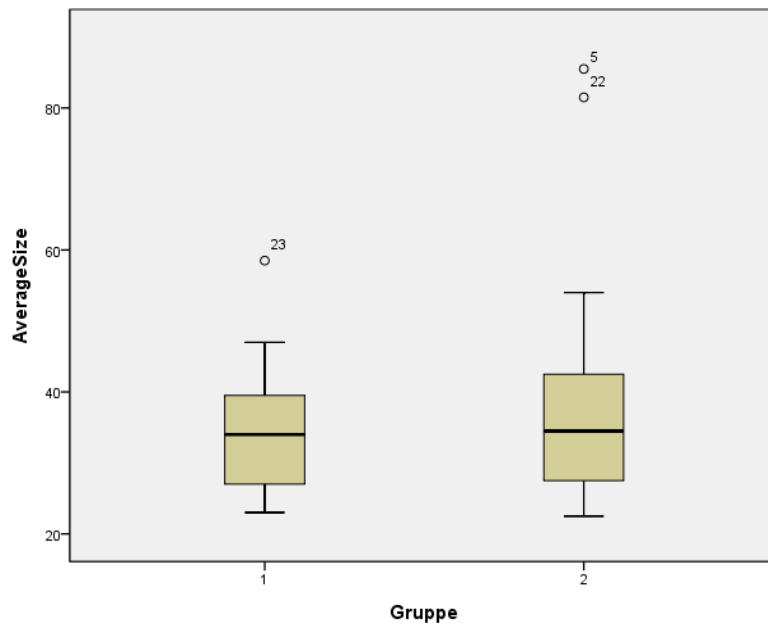
Tabelle 9: Thrombozyten-Adhäsionsparameter Gruppe 1 vs. Gruppe 2

Für alle drei Parameter Surface Coverage ($9,87 \pm 4,91$ vs. $10,55 \pm 3,66$ %; $P > 0,05$), Average Size ($34,96 \pm 10,24$ vs. $39,10 \pm 17,17$ μm^2 ; $P > 0,05$) und Objects (Anzahl der erfassten adhärenen Plättchenaggregate (1557 ± 412 vs. 1621 ± 351 s; $P > 0,05$)) wurden im Gruppenvergleich keine signifikanten Unterschiede gefunden. Die Messergebnisse sind in Abbildung 16 (A-C) grafisch dargestellt:

A:



B:



C:

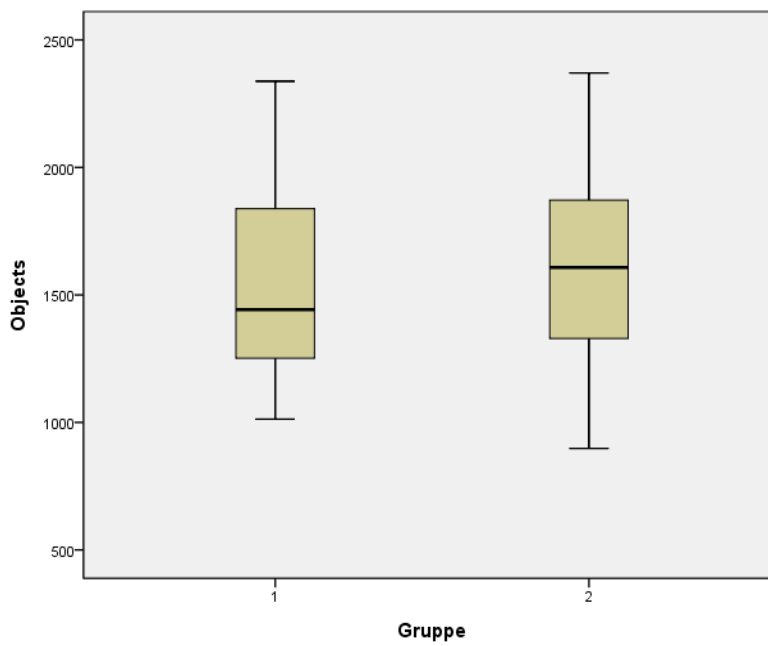


Abbildung 16: Parameter der Thrombozytenfunktionsmessung. Panel A: Surface Coverage [%]; Panel B: Average Size [μm^2]; Panel C: Objects.

5 Diskussion

Die pAVK ist eine häufige Manifestation der Arteriosklerose. Die Prävalenz der pAVK steigt mit dem Alter. Üblicherweise ist nur die Hälfte der älteren Patienten mit dokumentierter pAVK symptomatisch. Das Leitsymptom der pAVK der unteren Extremitäten (z.B. der AFS) ist der belastungsabhängige ischämische Schmerz, der distal der Gefäßstenose auftritt und den Patienten nach einer bestimmten Gehstrecke zwingt stehenzubleiben (Schaufensterkrankheit, Claudicatio intermittens). Der Einsatz von Rekanalisationsverfahren, z.B. einer Stentimplantation, ist grundsätzlich ab dem Stadium IIb nach Fontaine (Lebensstil-limitierende Beschwerden) indiziert. Allerdings entwickeln viele dieser Patienten Reobstruktionen im Therapiegebiet. In einer kürzlich durchgeführten Studie (Stentimplantation in der AFS) konnten Gary et al. einen Zusammenhang zwischen erhöhten atherogenen Lipoproteinen und der Entwicklung einer Reobstruktion nachweisen.²⁴ Sie konnten zeigen, dass hohe LDL und Apo B Spiegel bei gleichzeitig geringen HDL Werten die Entstehung von Reokklusionen fördern. Die hier vorliegende Diplomarbeit ist als eine Fortführung dieser Studie gedacht.

In den letzten Jahren wurde nachgewiesen, dass Lipidparameter Einfluss auf das Gerinnungssystem nehmen. So führen fettreiche Mahlzeiten zu einem Anstieg von Thromboxan B2 und D-Dimer und einer Reduktion von tissue Plasminogen Aktivator. Somit war es das Ziel dieser Diplomarbeit zu überprüfen, ob das Gerinnungssystem von Patienten mit hohem Reobstruktionsgrad (Gruppe 2) im Vergleich zum Gerinnungssystem von Patienten mit niedrigem Reobstruktionsgrad (Gruppe 1) aktiviert ist. Aus diesem Grunde haben wir Blutgerinnungsparameter (Thrombelastometrie, Thrombozytenaggregation und –adhäsion) von Patienten mit schwach ausgeprägter oder gar keiner Reobstruktion (Gruppe 1) mit jenen von Patienten mit stark ausgeprägter Reobstruktion (Gruppe 2) verglichen. Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Thrombozytenfunktion keine Rolle bei der Reobstruktion zu spielen scheint. Sowohl bei der Thrombozytenadhäsion wie auch bei der Thrombozytenaggregation konnten zwischen den beiden Gruppen keine statistisch signifikanten Unterschiede gefunden werden.

Allerdings zeigten sich bei den Thrombelastometrie-Parametern signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Das Blut von Patienten mit starker Reobstruktion (Gruppe 2) war hyperkoaguabel im Vergleich zum Blut von Patienten aus

Gruppe 1. Die Coagulation Time (CT) der Gruppe 2 war signifikant verkürzt, und der alpha-Winkel der Gruppe 2 war signifikant größer als in Gruppe 1. D.h., das Blut der Patienten aus Gruppe 2 (>50% Obstruktion) bildet auf einen Stimulus hin schneller erste Fibrinfäden (kürzere CTs) und auch die darauffolgende Clotstabilisierung durch Polymerisation und Quervernetzung von Fibrinmonomeren (größerer alpha-Winkel) läuft schneller ab als im Blut der Patienten aus Gruppe 1 (<50% Obstruktion).

Unsere Ergebnisse legen daher den Schluss nahe, dass die Blutgerinnung bei der Reobstruktion von Stents in der AFS eine wichtige Rolle spielen könnte. Die hohen Konzentrationen an atherogenen Lipoproteinen im Blut von Patienten mit hoher Reobstruktionsrate könnten zu einer Aktivierung des Gerinnungssystems führen. Ein aktiviertes Gerinnungssystem wiederum, also die Bildung größerer Mengen an Thrombin, dem Schlüsselenzym der Blutgerinnung, könnte weiterführend die Reobstruktion von Stents mitverursachen bzw. fördern²⁵.

Unter unseren Laborbedingungen scheint eine bei pAVK-Patienten mit AFS-Stentimplantation gemessene Coagulation Time <444,5 s auf ein aktiviertes Gerinnungssystem und ein damit verbundenes erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer Stentreobstruktion hinzuweisen.

Literaturverzeichnis

1. Vgl. Renz-Polster H, Krautzig S, Braun J., Basislehrbuch Innere Medizin, München, Urban & Fischer 3. Auflage 2004, S. 208ff
2. Criqui MH, Fronek A, Klauber MR, Barrett-Connor E, Gabriel S. The sensitivity, specificity, and predictive value of traditional clinical evaluation of peripheral arterial disease: results from noninvasive testing in a defined population. *Circulation* 1985;71(3):516-22
3. Vgl. Renz-Polster H, Krautzig S, Braun J., Basislehrbuch Innere Medizin, München, Urban & Fischer 4. Auflage 2008, S. 218ff
4. Vgl. Renz-Polster H, Krautzig S, Braun J., Basislehrbuch Innere Medizin, München, Urban & Fischer 3. Auflage 2004, S. 211ff
5. Vgl. Köck F., Koester B., Diabetisches Fußsyndrom. Praxiswissen Halte- und Bewegungsorgane, Stuttgart, Thieme 1. Auflage 2007, S.25ff
6. Vgl. Konrad Meyne, Handbuch arterielle Verschlusskrankheiten. Leitfaden zum Krankheitsbild, Hannover, Schlütersche 1. Auflage 2003, S. 33ff
7. Vgl. Ludwig M., Angiologie in Klinik und Praxis, Stuttgart, Thieme, 1998, S.52ff
8. Vgl. Ludwig M., Angiologie in Klinik und Praxis, Stuttgart, Thieme, 1998, S.56ff
9. Vgl. Kröger K., Gröchenig E., Nicht invasive Diagnostik angiologischer Krankheitsbilder, ABW Wissenschaftsverlag, 1. Auflage 2007, S.5ff
10. Vgl. Ludwig M., Angiologie in Klinik und Praxis, Stuttgart, Thieme, 1998, S.57
11. Vgl. Ludwig M., Angiologie in Klinik und Praxis, Stuttgart, Thieme, 1998, S.67
12. Vgl. Konrad Meyne, Handbuch arterielle Verschlusskrankheiten. Leitfaden zum Krankheitsbild, Hannover, Schlütersche 1. Auflage 2003, S.80ff
13. Vgl. Hepp W., Kogel H., Gefäßchirurgie, München, Urban & Fischer 2. Auflage 2007, S.112ff
14. Vgl. Ludwig M., Angiologie in Klinik und Praxis, Stuttgart, Thieme, 1998, S.73ff
15. Vgl. Hepp W., Kogel H., Gefäßchirurgie, München, Urban & Fischer 2. Auflage 2007, S.116ff

16. Vgl. Konrad Meyne, Handbuch arterielle Verschlusskrankheiten. Leitfaden zum Krankheitsbild, Hannover, Schlütersche 1. Auflage 2003, S.96ff
17. Rief P., Gary T., Brodmann M., Lipidparameter und ihr Zusammenhang mit der Entwicklung einer Restenose nach Stenting der Arteria femoralis superficialis. Diplomarbeit Medizinische Universität Graz, 2010, S.30
18. Vgl. Ludwig M., Angiologie in Klinik und Praxis, Stuttgart, Thieme, 1998, S.70ff
19. Vgl. Neumann H., Das Gerinnungssystem. Physiologie und Pathophysiologie – eine Einführung, Berlin, ABW Wissenschaftsverlag 1. Auflage 2007, S.3ff
20. Vgl. Kemkes-Matthes B., Oehler G., Blutgerinnung und Thrombose, Stuttgart, Thieme 3. Auflage 2001, S.7ff
21. Vgl. Pötzsch B., Madlener K., Hämostaseologie: Grundlagen, Diagnostik und Therapie, Berlin, Springer 2. Auflage 2010, S.3ff
22. Wodrig K., Cvirn G., Koestenberger M., Der Einfluss von Herzkatheter-Untersuchungen auf das Gerinnungssystem: Ein Vergleich zwischen Erwachsenen und Kindern. Diplomarbeit Med Uni Graz, 2010, S.26
23. Wodrig K., Cvirn G., Koestenberger M., Der Einfluss von Herzkatheter-Untersuchungen auf das Gerinnungssystem: Ein Vergleich zwischen Erwachsenen und Kindern. Diplomarbeit Med Uni Graz, 2010, S.34
24. Gary T., Rief P., Stojakovic T., Froehlich H., Scharnagl H., Hafner F., Pilger E., Brodmann M., Lipoproteins and the Development of Restenosis After Stent Implantation in the Superficial Femoral Artery in Patients with Peripheral Artery Disease. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2010, DOI 10.1007/s00270-010-0030-9.
25. Wilensky RL, Pyles JM, Fineberg N. Increased thrombin activity correlates with increased ischemic event rate after percutaneous transluminal coronary angioplasty: lack of efficacy of locally delivered urokinase. *Am Heart J* 1999;138:319-25.