

Diplomarbeit

Thrombozytenfunktionsmessung bei Patienten nach perkutaner Coronarintervention

eingereicht von

Stephanie Klinger

Geb.Dat.: 10.09.1987

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor(in) der gesamten Heilkunde
(Dr. med. univ.)**

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt am

Institut / Klinik für Kardiologie

unter der Anleitung von

Univ.-Prof. Dr. Friedrich Fruhwald

OA Dr. Florian Prüller

Ort, Datum

(Unterschrift)

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

Generische Maskulinum

Diese Diplomarbeit ist ausschließlich im generischen Maskulinum gehalten. Dies schließt die weibliche Form ebenso ein und dient ausschließlich der besseren Lesbarkeit und dem leichteren Verständnis des Textes.

Danksagungen

Zu aller erst möchte ich meinem Diplomarbeitsbetreuer Prof. Fruhwald danken, der mich bei der Erstellung meiner Diplomarbeit begleitet und mich ausgezeichnet unterstützt hat.

Ich möchte mich auch bei OA Prüller bedanken, der als mein Zweit-Betreuer immer erreichbar war und der mir bei der Patientenakquirierung ausgeholfen hat, wenn ich verhindert war.

Ganz besonders möchte ich meinen Eltern danken, die mich während meines Studiums nicht nur finanziell unterstützt haben, sondern auch immer ein offenes Ohr für meine Probleme hatten und ohne deren Hilfe ich niemals soweit gekommen wäre. Danke für alles.

Zu guter Letzt möchte ich mich noch bei meinem Cousin Christoph bedanken, der mir während der Erstellung der DA sein Excel Know How zur Verfügung gestellt hat, der aber auch während unserer gemeinsamen Studien- und Wohnzeit immer wieder als Kummerkasten herhalten musste.

Zusammenfassung

Hintergrund

Der P2Y₁₂ Rezeptorantagonist Clopidogrel ist das Mittel der Wahl bei der Stentimplantation nach perkutaner Coronarintervention. Eine Tagesdosis von 75mg Clopidogrel in Kombination mit 100mg Aspirin soll einen Verschluss des Stents durch Thrombozytenaggregation verhindern. In den letzten Jahren zeigte sich aber, dass trotz adäquater Clopidogreltherapie 14-18% der Patienten eine erhöhte Thrombozytenrestaggregation aufweisen und diese Personen ein erhöhtes Risiko für die Entstehung einer Stentthrombose aufweisen. Solch eine Stentthrombose verschlechtert die Prognose jener Patienten und kann in einigen Fällen fatal enden. Daher ergibt sich die Notwendigkeit der Testung der Thrombozytenfunktion nach Clopidogrel-Einnahme, denn nur so kann eine adäquate Behandlung garantiert werden.

Material und Methoden

Eingeschlossen wurden Patienten die elektiv im Herzkatheter behandelt wurden und dort einen Stent mit anschließendem Clopidogrel load (600mg) erhielten. Bei diesen Patienten wurde am nächsten stationären Aufenthaltstag Blut abgenommen und es erfolgte eine Bestimmung der P2Y₁₂ Rezeptorantwort mit verschiedenen Thrombozytenfunktionsmessverfahren. Aus diesen Messungen konnte dann bestimmt werden, ob eine Thrombozytenhemmung durch Clopidogrel vorlag. So konnte bestimmt werden ob Patienten Responder oder Non-Responder waren. Jene Patienten bei denen keine suffiziente Thrombozytenaggregationshemmung (TAH) vorlag wurden auf Prasugrel umgestellt und es wurde eine weitere Messung gemacht. Erst wenn durch die erneute Messung eine suffiziente Therapie bestätigt wurde, konnten die Patienten mit dieser Medikation nach Hause entlassen werden.

Ergebnisse

Insgesamt wurden in der Studie 14 Patienten (10 männlich, 4 weiblich, mittleres Alter 71,0±9,97 Jahre) untersucht. Es konnten 3 (21,4%) als Non-Responder und 11(78,6%) als Responder identifiziert werden. Alle Non-Responder wurden auf Prasugrel umgestellt und es konnte ihnen mittels Thrombozytenfunktionsmessung eine suffiziente Hemmung des P2Y₁₂ Rezeptors nachgewiesen werden. Im Zuge des Follow Up's von 6 Monaten zeigt sich, dass bei keinem Patient eine neuerliche PCI, eine Redilatation oder eine Bypass-OP erforderlich war. Bei zwei der Patienten, je einem Patient unter Clopidogrel bzw. unter Prasugreltherapie, kam es laut Follow Up zu Blutungskomplikationen.

Resümee

Ein nicht unerheblicher Teil der Patienten weist eine Resistenz auf Clopiogrel auf. Angesichts der potentiell lebensbedrohlichen Folgen wäre eine routinemäßige Testung auf Clopidogrelwirksamkeit gerechtfertigt. Die Non Responder profitierten von der

Umstellung auf Prasugrel, da sich kein erneuter Verschluss ereignete und sich das Outcome nicht von dem der Responder unterscheidet.

Abstract

Background

Clopidogrel, a P2Y₁₂ receptor antagonist is the common medication for patients, after coronary stent implantation. A daily dose of 75mg Clopidogrel, in combination with 100mg Aspirin is used to prevent a stent occlusion. The literature reports 14-18% of people suffering from stent occlusion, although they received the optimal medication. Stent thrombosis leads to a poorer outcome, or causes even fatal results. Therefore, testing for platelet function in patients getting Clopidogrel appears advisable. By doing so, one can be sure on the inhibition of thrombocytes and therefore optimal treatment.

Material and Methods

Patients with elective coronary angiography and consecutive coronary artery stenting were included. During or immediately after the procedure these patients were loaded with 600mg Clopidogrel. The next day a blood sample was taken to test the inhibition of the P2Y₁₂ thrombocyte-receptor. With these tests the patients were grouped into Responder with an inhibition of the receptor and into Non-Responder without an inhibition. Non-Responders were switched to a more potent P2Y₁₂ receptor blocker, Prasugrel and after one day they were tested again. Only if this test showed a potent inhibition of the receptor, the patients were discharged from the hospital.

Results

Overall 14 patients (10male, 4 female, mean age 71,0±9,97 years) were studied. It was possible to detect 3 (21,4%) Non-Responder and 11 (78,6%) Responder. All Non-Responders were switched to Prasugrel and after that, an efficient inhibition of the thrombocyte receptor was found. During 6 months follow up none of the patients underwent further PCI, a stent redilatation or a bypass grafting. Furthermore, during the follow up, there was one person in each group with bleeding complications.

Resume

A quiet respectable proportion of patients had resistance to Clopidogrel in this study. Due to the potential life-threatening consequences of this finding routine testing on Clopidogrel response seems advisable. Non-Responder reacted beneficial when switched to Prasugrel and during follow-up no major complications were found.

Inhaltsverzeichnis

Eidesstattliche Erklärung.....	i
Danksagungen.....	ii
Zusammenfassung.....	iii
Abstract.....	v
Inhaltsverzeichnis	vi
Glossar und Abkürzungen.....	ix
Abbildungsverzeichnis	xi
Tabellenverzeichnis	xii
1 Hintergrund	13
1.1 Koronare Herzerkrankung.....	13
1.1.1 Definition	13
1.1.2 Epidemiologie.....	13
1.1.3 Ätiologie.....	14
1.1.4 Pathogenese	14
1.1.5 Folgen der Ischämie:	15
1.1.6 Klinik.....	16
1.1.7 Diagnose	17
1.1.8 Therapie	17
1.2 Komplikationen nach PCI.....	19
1.2.1 Stentthrombose	19
1.2.2 Stent-Verschluss	21
1.3 Prävention der Stent-Thrombose	22
1.3.1 Thrombozytenaggregationshemmer	23
1.3.2 Allgemeines	23

1.3.3	Aspirin	23
1.3.4	Adenosindiphosphat Hemmer.....	23
1.3.5	Allgemeine Behandlungsrichtlinien	24
1.4	Clopidogrel Response und mögliche Resistenzen	25
1.5	Thrombozytenfunktionsmessung.....	26
1.5.1	Allgemeines	26
1.5.2	Methoden zur Thrombozytenfunktionsmessung.....	26
2	Fragestellung und Ziel der Diplomarbeit.....	31
2.1	Fragestellung	31
2.2	Ziel.....	31
3	Material und Methoden	32
3.1	Patientengut.....	32
3.1.1	Einschlusskriterien.....	32
3.1.2	Ausschlusskriterien.....	32
3.2	Allgemeine Durchführung.....	33
4	Ergebnisse	37
4.1	Allgemeine Daten.....	37
4.2	Allgemeine Ergebnisse	37
4.3	Auswertung der Daten in Bezug auf den Responderstatus	43
4.3.1	Geschlechterverteilung	44
4.3.2	Verteilung innerhalb der BMI-Klassen.....	45
4.3.3	Verwendete Stenttypen und Stentlokalisation	46
4.3.4	Risikoprofil und Medikamentenverteilung.....	47
4.3.5	Gerinnungswerte	48
4.4	Ergebnisse nach Umstellung der Non-Responder auf Prasugrel.....	48
4.5	Ergebnisse der Follow-Up's	53
4.6	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	57
5	Diskussion	58

5.1	Allgemein	58
5.2	Vergleich der Thrombozytenfunktionstests.....	58
5.3	Vergleich möglicher Resistenzmuster mit der Literatur.....	59
5.4	Vergleich der Follow-Up Ergebnisse mit der Literatur.....	60
5.5	Ausblick	61
5.6	Resümee	62
6	Literaturverzeichnis.....	64

Glossar und Abkürzungen

ACC	American College of Cardiology
ACE	Angiotensin-Converting-Enzym
ADP	Adenosindiphosphat
AHA	American Heart Association
AP	Angina pectoris
APOB-100	Apolipoprotein 100
APTT	Partial Thromboplastin time
AT	Antithrombin III
AT-II-Blocker	Angiotensin-II-Rezeptorblocker
ATP	Adenosintriphosphat
AU	Aggregation units
AUC	Area under the curve
BMI	Body Mass Index
BMS	Bare metal stent
CABAG	Coronary artery bypass grafting
CKMB	Creatin-Kinase Muscle-Brain
COX	Cyclooxygenase
CYP	Cytochrom P
DES	Drug eluting stent
EKG	Elektrokardiographie
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
FRA	Fibrin receptor activation assay
GP-IIb/IIIa-Blocker	Glycoprotein-IIb/IIIa-Rezeptorblocker
KH	Krankenhaus
KHK	Koronare Herzerkrankung
LAD	Left anterior descending (coronary artery)
LCA	Left coronary artery
LCx	Left circumflex (coronary artery)
LDL	low density lipopolysaccharide
LTA	Light transmitted aggregometry
MCI	Myocardinfarkt

NO	Stickstoffmonoxid
NSAR	nicht-steroidale Antirheumatika
PAR	Protease activating receptor
PCI	Percutaneous coronary intervention
PF	Plättchenfaktor
PFA	Platelet function Analyzer
PP	Phosphorprotein
PPI	Protonenpumpen-Inhibitoren
PRI	Plättchenreaktivitätsindex
PZ	Prothrombinzeit
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RCA	Rechte Koronararterie
RPC	Residual platelet count
SEM	Standard error of the mean
TA	Thrombozytenaggregation
TAH	Thrombozytenaggregationshemmer
TEG	Thromboelastographie
TIA	Transitorisch ischämische Attacke
TRAP	Thrombinrezeptor aktivierendes Peptid
VASP	Vasodilatator-stimulierendes Phosphoprotein
vWF	Von Willebrand-Faktor
β-TG	β-Thromboglobulin

Abbildungsverzeichnis

Abb.1: Darstellung der Therapiemöglichkeiten	19
Abb. 2: Thrombozytenaggregation, beteiligte Agonisten und Rezeptoren.....	21
Abb. 3: Darstellung der Durchführung.....	35
Abb. 4: Darstellung (optische Aggregometrie, VASP, Flexstation).....	39
Abb. 5: Darstellung optisch AUC.....	41
Abb. 6: Darstellung Verify Now.....	41
Abb. 7: Darstellung PFA-100.....	42
Abb. 8: Darstellung Multiplate.....	42
Abb. 9: Aufteilung der Gesamtpopulation auf Responder bzw. Non-Responder	43
Abb. 10: Darstellung der Geschlechterverteilung.....	44
Abb. 11: Verteilung der BMI-Klassen über die Gruppen.....	45
Abb. 12: Darstellung Stentlokalisierung.....	46
Abb. 13: Darstellung Stenttypen.....	46
Abb. 14: Darstellung Risikoprofil.....	47
Abb. 15: Darstellung Medikamentenverteilung.....	47
Abb. 16: Darstellung der Mittelwerte vor und nach Medikamentenumstellung (optische Aggregometrie, VASP, Flexstation).....	49
Abb. 17: Darstellung der Mittelwerte vor und nach Medikamentenumstellung (optisch AUC).....	50
Abb. 18: Darstellung der Mittelwerte vor und nach Medikamentenumstellung (PFA100).....	51
Abb. 19: Darstellung der Mittelwerte vor und nach Medikamentenumstellung (VerifyNow).....	52
Abb. 20: Darstellung der Mittelwerte vor und nach Medikamentenumstellung (Multiplate).....	52
Abb. 21: Follow Up-Ergebnisse 1.....	54

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Canadian Cardiovascular Society AP-Klassifikation.....	16
Tab. 2: Allgemeine Patientencharakteristika.....	37
Tab. 3: Labordaten 1.....	38
Tab. 4: Labordaten 2.....	40
Tab. 5: Altersaufteilung.....	44
Tab. 6: Aufteilung BMI.....	44
Tab. 7: Gerinnungswerte.....	48
Tab.8: Vergleich Clopidogrel vs. Prasugrel (optische Aggregometrie, Flexstation, VASP).....	49
Tab. 9: Vergleich Clopidogrel vs. Prasugrel (optisch AUC).....	50
Tab. 10: Vergleich Clopidogrel vs. Prasugrel (Multiplate, Verify Now. PFA-100).....	51
Tab. 11: Follow Up-Ergebnisse 2.....	55
Tab.12: Follow Up-Ergebnisse 3.....	56

1 Hintergrund

1.1 Koronare Herzerkrankung

1.1.1 Definition

Die Koronare Herzkrankheit ist die Manifestation der Atherosklerose in den Herzkranzgefäßen und bedingt durch eine Flussminderung kommt es zur Koronarinsuffizienz. Hierbei handelt es sich um eine Diskrepanz zwischen Blutangebot und Blutbedarf, eigentlich genauer zwischen Sauerstofftransport und Sauerstoffbedarf. Daraus ergibt sich eine Ischämie des Herzmuskels mit verschiedensten Manifestationen [1]:

- Asymptomatische koronare Herzkrankheit (=KHK)
- Angina pectoris (wenn die Ischämie noch reversibel ist)
- Herzinfarkt: Myokardnekrose
- Herzrhythmusstörungen bis hin zum plötzlichen Herztod
- Ischämische Herzmuskelschädigung mit Linksherzinsuffizienz

1.1.2 Epidemiologie

Die KHK ist der Hauptgrund für Todesfälle und Folgeerkrankungen in der entwickelten Welt [2]. In Österreich verstarben alleine im Jahr 2010 33.196 Personen an Herzerkrankungen [3].

1.1.3 Ätiologie

Die Hauptursache ist wie schon oben erwähnt eine Verengung der proximalen Koronararterien durch Atherosklerose [4]. Daher sind die Risikofaktoren der KHK, die gleichen wie die der Atherosklerose:

Haupttrisikofaktoren [2,4]:

- Hyperlipidämie
- Arterielle Hypertonie
- Diabetes mellitus (v.a. Diabetes mellitus Typ 2)
- Familiäre Belastung (in Bezug auf KHK bzw. Herzinfarkt)
- Lebensalter (m \geq 45 Jahre; w \geq 55 Jahre)
- Rauchen
- Übergewicht

1.1.4 Pathogenese

1.1.4.1 Pathogenese der Atherosklerose

Der Anfang ist nicht geklärt, es wird von einer Schädigung des Endothels ausgegangen, da Plaques meist an Stellen mit hohen Scherkräften entstehen [4]. Es kommt zu einer subintimalen Ansammlung von Fett, Monozyten, Thrombozyten und Zelltrümmern [2]. Die Thrombozyten beeinflussen das Wachstum der Plaque durch die Freisetzung von adhäsiven Liganden wie P-selectin [5]. Die Monozyten werden in der Intima zu Makrophagen umgewandelt und setzen O_2 -Radikale frei, durch diese Radikale werden die eingewanderten low density Lipoproteine (LDL)-Lipide oxidativ verändert. Diese veränderten LDL werden nicht mehr von ihrem eigentlichen Apolipoprotein ApoB-100 sondern von Scavenger-Rezeptor erkannt, dieser befindet sich in großer Zahl auf den Makrophagen wieder [4]. Die Makrophagen phagozytieren die LDL und werden zu Schaumzellen, die sich in die Intima einlagern und mit ihrer extrazellulär Matrix zur Plaquebildung beitragen [6]. Weiter kommt es auch zur Migration von Muskelzellen aus der Media in die Intima.

1.1.4.2 Pathophysiologie der Koronaren Herzkrankheit

Durch Bildung einer atherosklerotischen Plaque kommt es zur Verengung der Herzkranzgefäße und ebenfalls bedingt durch die Atherosklerose zur Versteifung der Koronararterien und damit erhöht sich der Widerstand im Gefäß. Die Lokalisation und das Ausmaß der Stenose, sowie die Veränderung des Herzmuskels (Ischämie, Fibrose, Nekrose) bestimmt die Schwere des klinischen Bildes [1]. So ergibt es sich, dass anfänglich nur bei Belastung und später auch in Ruhe eine Ischämie entsteht[4].

In Bezug auf die Lokalisation gibt es 4 Äste die besonders wichtig sind [7]:

- Rechte Koronararterie (RCA) mit der akut marginalen, posterior deszendierenden und posterolateralen Abzweigung
- Linker Hauptast der Koronararterien (LCA)
- Linke anteriore deszendierende Arterie (LAD) und ihre septalen Äste
- Linke Arterie circumflexa (LCX) und ihre Marginaläste

Je nach Ausprägung der Stenosierung kann man klinisch, angiographisch, anatomisch und pathologisch zwischen 1, 2 und 3 Gefäßerkrankungen unterscheiden [7]. Störungen der Durchblutung sind erst ab einem Stenosegrad >50% zu erwarten, jedoch spielt auch die Ausbildung von Kollateralkreisläufen eine Rolle.

1.1.5 Folgen der Ischämie:

Bedingt durch die Mangel durchblutung kann es zu einer Störung der Funktion des Myokards kommen, ausgelöst durch einen ATP-Mangel.

Folgen des ATP-Mangels sind [4]:

- Versteifung des Myokards während der Diastole, dadurch erhöht sich der diastolische Ventrikel- und Vorhofdruck.
- Ist die Papillarmuskulatur betroffen kann es zum Abriss kommen
- Verminderung der Pumpfunktion
- Rückstau in den Lungenkreislauf

1.1.6 Klinik

Die koronare Herzerkrankung kann lange asymptomatisch sein. Erst bei einer ausgeprägten Stenose kann es bei Belastung zu typischen Symptomen, wie retrosternalen Schmerzen, die in Arm und Hals ausstrahlen, kommen. Der Schmerz wird oft als ein Druck auf der Brust beschrieben.

Klasse	Schweregrad
I	Normale körperliche Aktivität verursacht keine Beschwerden. Die Beschwerden treten erst bei länger dauernder Belastung, bei der Arbeit oder in der Freizeit auf.
II	Hier treten die Beschwerden beim schnellen Gehen, beim Treppensteigen, beim Bergaufgehen, beim Gehen oder Treppensteigen nach Mahlzeiten, bei Kälte, bei psychischem Stress auf.
III	Der Patient wird beträchtlich eingeschränkt in seiner normalen Aktivität. Die Beschwerden treten schon bei kurzen Gehstrecken, bzw. beim Treppensteigen in die erste Etage auf.
IV	Dem Patienten ist es nicht möglich irgend eine Art körperlicher Bewegung durchzuführen, die Beschwerden treten bereits in Ruhe auf

Tabelle 1 Canadian Cardiovascular Society AP-Klassifikation [2]

1.1.7 Diagnose

Wichtig ist eine genaue Anamnese, bei der der Patient die Schmerz Qualität, Quantität und Lokalisation genau beschreiben soll.

Darauf folgt eine genaue körperliche Untersuchung und eine Analyse des Blutes mit besonderem Augenmerk auf die Herzfermente wie Creatin-Kinase Muscle-Brain (=CKMB) und Troponin. Anschließend folgen nicht invasive apparative Verfahren wie Elektrokardiographie (=EKG), wobei dies wenn kein Infarkt vorliegt auch bei einer ausgeprägten Stenose unauffällig sein kann und daher eignet sich hier besser ein Belastungs-EKG mit dem Fahrradergometer. Die Diagnose lässt sich durch eine invasive explorative Koronarangiographie bestätigen.

1.1.8 Therapie

1.1.8.1 Konservative Therapie

1.1.8.1.1 Primärprävention

Die Änderung des Lebensstils, sowie die Minimierung der bestehenden Risikofaktoren stehen hier im Zentrum [9]. So können durch diese Maßnahmen bei Patienten mit stabiler KHK ebenso gute Ergebnisse wie mit einer interventionellen Therapie erzielt werden [10].

1.1.8.1.2 Sekundärprävention

Die konventionelle medikamentöse Therapie, bestehend aus Nitraten, Inhibitoren des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (=RAAS) [Angiotensin-Converting-Enzym-Hemmer (ACE) und Angiotensin-II-Rezeptorblocker] und Medikamente die den myokardialen Sauerstoffbedarf reduzieren in dem sie die Herzfrequenz herab setzen.

Zu den Medikamenten welche die Herzfrequenz verringern zählen [8]:

- β -Blocker
- Kalziumkanalblocker

Bei der konventionellen Therapie werden auch Medikamente eingesetzt welche die Thrombozytenaggregation hemmen [8]:

- Glycoprotein IIb/IIIa-Rezeptorantagonisten
- Acetylsalicylsäure
- Thienopyridin

1.1.8.2 Nicht medikamentöse Therapie

Bei Patienten die wiederkehrende Symptome einer Angina aufweisen, die eine Erhöhung der Herzenzyme aufweisen oder auch bei Patienten bei denen die medikamentöse Therapie versagt oder bei Risikopatienten muss eine frühe invasive Behandlung angedacht werden [8].

Hierfür werden hauptsächlich die perkutane Koronarintervention (PCI) und die aortokoronare Bypassoperation, auch coronary artery bypass grafting (CABG) genannt, eingesetzt. Bei der Bypass Operation werden künstlich Umgehungskreisläufe geschaffen und so die Versorgung wieder hergestellt [11].

Die PCI beinhaltet die Ballon-Angioplastie, die Implantation eines Stents, sowie die Technik der Atherektomie [9]. Bei der PCI kann das verengte Gefäß nun mittels Ballon aufgedehnt und zusätzlich noch ein Stent eingebracht werden [12]. Bei der Auswahl der Stents gibt es zwei Typen die verwendet werden, die reinen Metallstents (bare metal stent =BMS) und Stents, die mit pharmakologisch wirksamen Materialien, wie Taxol beschichtet sind (drug eluting stent =DES).

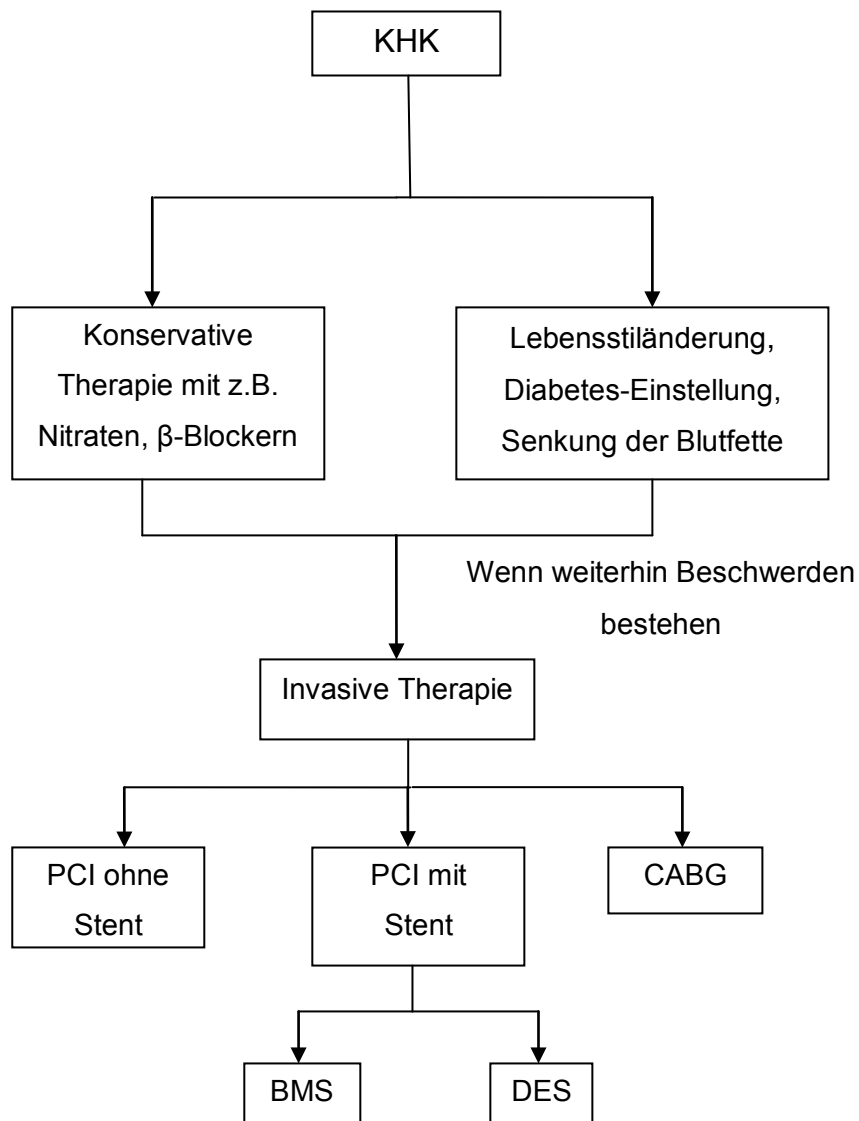


Abbildung 1: Darstellung der Therapiemöglichkeiten

1.2 Komplikationen nach PCI

1.2.1 Stentthrombose

1.2.1.1 Allgemeines

Die Stentthrombose, ist eine häufige Ursache für die Entstehung von Komplikationen bei bereits behandelter KHK [13].

1.2.1.2 Einfluss der Thrombozyten bei der Bildung einer Stentthrombose

Thrombozytenaktivierung:

Die Aktivierung der Thrombozyten spielt nicht nur bei der primären Hämostase eine Rolle sondern auch bei der Ausbildung von Stentthrombosen. [14]. Meist stellt die Ruptur oder Erosion des bestehenden Plaques das auslösende Ereignis dar, welche zur Aktivierung der Blutplättchen führt.

Die Thrombozyten reagieren anfänglich mit den Glycoproteinen an der Zelloberfläche und mit subendothelialen Proteinen [13]. Die Thrombozyten binden mit ihrem Fibrinogenrezeptor an der Gefäßwand und dies führt weiter zur Freisetzung der Agonisten Thromboxan A₂, Adenosindiphosphat (ADP) und Thrombin, welche an den Oberflächenrezeptoren der Thrombozyten binden und so zur Degranulation der Thrombozyten, zur Freisetzung weiterer Agonisten, zur Formveränderung der Thrombozyten und zur weiteren Aktivierung des Glycoprotein IIb/IIIa-Rezeptors führen [13].

Thrombozytenaggregation:

1. Reversible Aggregation[15]:

Durch die Sezernierung von ADP, Fibrinogen, Fibronectin, von Willebrand Faktor (vWF) und Thromboxan A, wird die Anhaftung der Thrombozyten verstärkt und es kommt zur weiteren Aktivierung von Thrombozyten.

2. Irreversible Aggregation[15]:

Unter der Vermittlung von ADP und Thrombin kommt es zur verstärkten Plättchen-Plättchen-Aggregation. ADP bindet an den P2Y₁₂ –Rezeptor der Thrombozyten und es kommt zur Verschmelzung der Thrombozyten miteinander durch Auflösung der Zellmembran und durch deren Auflösung kann nun weiteres ADP freigesetzt werden. Thromboxan A₂ verstärkt die irreversible Aggregation.

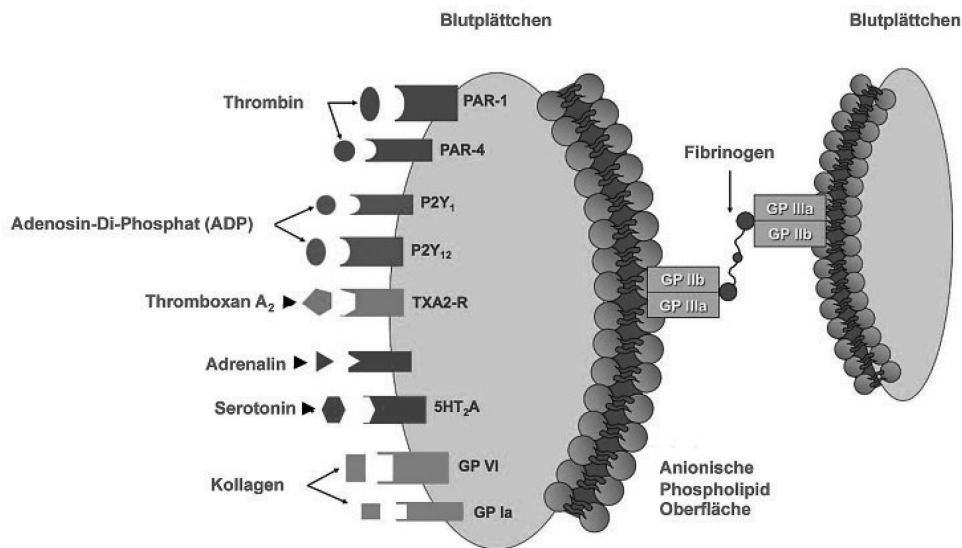


Abbildung 2: Thrombozytenaggregation und beteiligte Agonisten und Rezeptoren (mit freundlicher Genehmigung von Prof. B. Meier, Kardiologie, Universitätsklinik Inselspital, CH-3010 Bern) [16]

1.2.2 Stent-Verschluss

1.2.2.1 Allgemeines

Die Möglichkeit der Stentimplantation bei PCI brachte einen großen Fortschritt im Bereich der Revaskularisationsverfahren und trug dazu bei, dass akute Verschlüsse und Restenosen beträchtlich verringert wurden. Jedoch bleibt auch hier bei 1-9% der Patienten das Risiko, dass das bzw. die behandelte/n Gefäß/e sich wieder verschließen [17]. Einflussfaktoren sind, die Ausbildung eines Thrombus bzw. einer Restenose sowie die Position und die Länge des Stents, sowie das verwendete Stentmaterial [17]. Der Verschluss eines Stents kann für die betroffenen Personen schwerwiegende Folgen haben. Klinisch kann sich die Thrombose als akut auftretendes ischämisches Symptom präsentieren, oft führt sie aber auch zur Ausbildung eines Myokardinfarktes mit fatalem Ausgang [18].

1.2.2.2 Bildung einer Stent-Thrombose bzw.-Restenose

Im Bereich des Stents entstehen hohe Scherkräfte wodurch sich die Thrombozyten in diesem Bereich anlagern können, weiters kann es durch die Implantation des Stents zur Verletzung des Endothels kommen [19]. Diese Vorgänge führen zur Aktivierung und Aggregation der Thrombozyten. Weiters kommt es zur Umlagerung der bestehenden Plaque, zur Entzündungsreaktion und somit zur Thrombosebildung im Stent [19]. Diese Prozesse führen also zur Bildung einer Stentthrombose. Es kann nun eine Migration und Proliferation von glatten Gefäßmuskelzellen in die Intima erfolgen, die Zellen bilden extrazelluläre Matrix, welche eine Volumenzunahme des intimalen Gewebes zur Folge hat [20]. Somit kommt es also zu einer Verengung und schließlich zur Ausbildung einer Restenose im Bereich des Stents. Der Nachweis der Thrombose bzw. Restenose erfolgt entweder klinisch, hier ist sie definiert als wiederkehrende Angina pectoris artige Beschwerden oder er erfolgt radiologisch, mittels Angiographie [21]. Abhängig von der Zeit kann unterschieden werden ob eine Stentthrombose (ereignet sich früh nach der Intervention) oder eine Stentrestenose (Zeitraum zwischen Intervention und Beschwerden ist länger) vorliegt [21]. Es muss auch unterschieden werden, dass die Bildung der Stentthrombose stark von der Thrombozytenaktivierung (TA) abhängig ist, während diese bei der Stentrestenose eigentlich keine wesentliche Rolle spielen

1.3 *Prävention der Stent-Thrombose*

Nach der PCI mit Stentimplantation kann es ohne adäquate weitere Behandlung in ca. 30% der Fällen zu ischämischen Komplikationen wie, Myokardinfarkten (MCI) oder sogar zum Tod kommen [22, 23]. Um dies zu vermeiden werden die Patienten vor und nach der PCI mit verschiedenen Medikamenten versorgt, deren Wirkung einen Verschluss des versorgten Gefäßes verhindern soll [24].

1.3.1 Thrombozytenaggregationshemmer

1.3.2 Allgemeines

Sie sind ein wichtiger Bestandteil bei der Nachsorge von Patienten nach perkutaner Coronarintervention mit Stentimplantation [26].

1.3.3 Aspirin

Wirkstoff ist Acetylsalicylsäure und diese gehört zur Gruppe der nicht steroidal Antirheumatika (NSAR's) [25]. Es wirkt über die irreversible Acetylierung des Cyclooxygenase-Enzyms (COX-1), dieses Enzym ist wichtig für die Synthese von Thromboxan A₂ [27]. Diese Wirkung hält einige Tage lang an, da die Thrombozyten auf Grund ihres fehlenden Zellkerns das fehlende Enzym nicht nachbilden können [27]. Die wirksame Dosis von Aspirin beträgt 50-200mg/Tag [25].

1.3.4 Adenosindiphosphat Hemmer

Hierzu gehören die Thienopyridine Clopidogrel, und Prasugrel. Diese sind Prodrugs, das heißt sie werden erst in der Leber via Cytochrom P450 3A4 (CYP3A4) in ihren aktiven Metaboliten umgewandelt [27].

Sie hemmen die Thrombozytenaggregation ebenfalls irreversibel. Sie binden sich an den P2Y₁₂ ADP-Rezeptor an der Thrombozytenoberfläche [28]. Damit verhindern sie, dass sich ADP an den Rezeptor bindet und dies führt dazu, dass eine Vernetzung der Thrombozyten untereinander über den GP IIb/IIIa-Rezeptorkomplex ausbleibt.

Clopidogrel: Die gängige Tagesdosis des Medikamentes beträgt 75mg. Am häufigsten wird Clopidogrel gemeinsam mit Aspirin bei Patienten nach PCI mit Stentimplantation eingesetzt [29,30]. Die Patienten bekommen unmittelbar vor oder nach PCI eine Initialdosis die sogenannte loading dose mit 300-600mg Clopidogrel, die höhere Dosis zeigt eine verbesserte Wirkung [31].

Prasugrel: Es ist ein neueres Thienopyridin, welches über einen Schritt in seine aktive Form umgewandelt werden muss [32]. Prasugrel nimmt immer größere Bedeutung in der Prävention von Stent-Thrombosen ein, da es im Gegensatz zu Clopidogrel eine höhere Konzentration des aktiven Metaboliten zur Verfügung stellt und somit den P2Y₁₂ Rezeptor schneller und effektiver blockiert [33]. Prasugrel wird den Patienten nach PCI ebenfalls gemeinsam mit Aspirin verabreicht. Die Patienten erhalten auch hier eine loading dose von 60mg Prasugrel, dann wird auf eine tägliche Dosis von 10mg Prasugrel umgestellt. Prasugrel erbringt durch seinen früheren Wirkungseintritt vor allem in den ersten Tagen einen Vorteil für die Patienten. Es gibt jedoch Patientengruppen, für die die Prasugreltherapie eigentlich nicht zugelassen ist, dies sind alle Patienten die einen Insult oder eine transitorisch ischämische Attacke (TIA) in der Vorgeschichte aufweisen, alle Patienten über 75 Jahre und Patienten die ein Körpergewicht unter 60kg aufweisen [32].

Ticagrelor: Ist ein sehr neuer ADP-Hemmer und gehört zur Gruppe der Triazolopyrimidine. Die Wirkungsweise ist wie bei Clopidogrel und Prasugrel, jedoch ist Ticagrelor kein Prodrug und hemmt reversibel.

1.3.5 Allgemeine Behandlungsrichtlinien

Die Patienten bekommen vor der PCI Heparin und Aspirin intravenös. Heparin verhindert nur die Thrombin-assoziierte Aggregation, nicht aber die Aggregation ausgelöst durch andere Agonisten wie zum Beispiel ADP und Kollagen, daher ist nach der PCI eine Behandlung mit einem Thrombozytenaggregationshemmer angebracht [34]. Laut den gemeinsamen Guidelines des American College of Cardiology und der American Heart Association (ACC/AHA) , sollten die Patienten so rasch als möglich bereits während oder unmittelbar nach PCI eine loading dose eines Thienopyridins (300-600mg Clopidogrel oder 60mg Prasugrel) erhalten und diese Therapie in Kombination mit 100mg Aspirin, je nach Abhängigkeit des verwendeten Stentmaterials für die Dauer von 3-6 Monaten fortführen [34].

1.4 Clopidogrel Response und mögliche Resistenzen

In den letzten Jahren zeigte sich aber immer mehr, dass es individuelle Unterschiede bezüglich des Ansprechens auf vor allem Clopidogrel gibt und es wird sogar diskutiert ob eine Resistenz möglich ist [35]. So haben die Patienten zum Beispiel eine unterschiedlich hohe Restaggregation der Thrombozyten nach Clopidogrel Load, diese Patienten haben wie sich zeigt ein höheres Risiko für die Entstehung von kardiovaskulären bzw. thrombotischen Ereignissen und auch die Rate der Todesfälle ist erhöht [36]. Diese erhöhte Restaggregation nach Load tritt bei ca. 14-18% der Patienten auf, es zeigt sich auch, dass zu dieser Risikogruppe vor allem Frauen mit Diabetes mellitus gehören [37]. Die Patienten bei denen ein schlechteres Ansprechen auf die Therapie bzw. bei denen sogar eine Art Resistenz vermutet wird, scheinen auch allgemein besser auf Agonisten der Thrombozytenaggregation wie ADP und Kollagen anzusprechen und reagieren daher weniger sensibel auf den Thrombozytenaggregationshemmer als andere [38]. Aus diesem Grund besteht auch die Vermutung, dass Patienten mit einem verminderten Ansprechen auf Clopidogrel auch auf andere Medikamente, wie zum Beispiel Aspirin, schlechter reagieren. Ein weiterer Faktor, der die Wirkung von Clopidogrel beeinflusst, scheint die Interaktion mit anderen Medikamenten zu sein. So wird den Patienten oft zur Reduktion des Risikos einer möglichen Gastrointestinalblutung ein Protonenpumpeninhibitor verschrieben, dieser beeinflusst aber die Wirkung des Clopidogrels [39]. Auch für diverse Statine wird ein negativer Einfluss auf die Clopidogrel-Wirkung diskutiert [38]. Die Wirkungsweise von Clopidogrel wird vor allem auch durch Medikamente verändert die für ihren Abbau über Cytochrom P 450 verstoffwechselt werden, da Clopidogrel CYP450 benötigt um in seinen aktiven Metaboliten umgewandelt zu werden [38]. Auch eine genetische Veränderung des Thrombozytenrezeptors hat Einfluss auf die Wirkung von Clopidogrel auf die Thrombozyten [38]. So wurde beschrieben, dass der genetisch Haplotyp H2 des P2Y₁₂ Rezeptors ein geringeres Ansprechen auf Clopidogrel zeigt [38].

1.5 Thrombozytenfunktionsmessung

1.5.1 Allgemeines

Die Informationen die in den letzten Jahren über das individuell unterschiedliche Ansprechen der Patienten auf Clopidogrel gewonnen wurden, machen es notwendig, Verfahren einzuführen die eine Testung der Thrombozytenfunktion nach Clopidogrel-Gabe ermöglichen [35]. Es gibt bereits diverse Verfahren um dies zu messen. Jedoch werden sie noch nicht routinemäßig eingesetzt, dies liegt auf der einen Seite daran, dass einige dieser Verfahren unpraktisch oder sehr teuer sind und dass es keine genauen Vorschriften gibt, wie genau die Messung zu erfolgen hat und auf welche Messbedingungen geachtet werden muss [40]. Auf der anderen Seite, kommt es erst in den letzten Jahren in das Bewusstsein vieler, dass eine Testung das bestehende Rest-Risiko für eine Stentthrombose senken bzw. vielleicht sogar aufheben kann.

1.5.2 Methoden zur Thrombozytenfunktionsmessung

Zurzeit stehen folgenden Methoden zur Messung der Thrombozytenfunktion zur Verfügung: Die Lichttransmissionsaggregometrie, VerifyNow, Multiplate[®] Analyzer, zwei Verfahren die auf Durchflusszytometrie basieren, Impact Cone und Plate(let) Analyzer, Plateletworks, Platelet Function Analyzer (PFA)-100 bzw. PFA-200 (mit neuer P2Y Messzelle), Innovance PFA[®] P2Y und die Thromboelastographie (TEG) Platelet Mapping System [41].

Lichttransmissionsaggregometrie (LTA): Wurde 1962 von Born entwickelt und gilt bis heute als Standardmethode und wird am häufigsten verwendet [40]. Für die Messung wird plättchenreiches Plasma benötigt, das heißt die Probe muss zentrifugiert werden [42]. Dann erfolgt die Zugabe von Agonisten wie ADP, Arachidonsäure, Thrombinrezeptor aktivierendes Peptid (TRAP), Kollagen oder Adrenalin und dadurch kommt es zur Stimulierung der Thrombozytenaggregation.

Dann wird das Ausmaß der Aggregation über eine Zunahme der Lichttransmission bestimmt.

Mit dieser Methode kann eine erhöhte Restaggregation bestimmt werden und diese konnte in Zusammenhang mit einem erhöhten Risiko für atherothrombotische Ereignisse gestellt werden [42]. Jedoch ist diese Methode für den routinemäßigen Gebrauch nur bedingt geeignet, da sie durch die Notwendigkeit der Zentrifugation um 30 Minuten länger dauert, es werden Probemengen von 10-20ml Vollblut und ein großes Know How benötigen [42]. Verify Now: Basiert auf der optischen Messung der Thrombozytenaggregation im Vollblut. Hier befinden sich Fibrin-beschichtete Kügelchen in einer Kartusche die bei Aktivierung der Thrombozyten einen Niederschlag bilden und so die Lichttransmission verändern. Die Aktivierung und Aggregation der Thrombozyten erfolgt durch Zugabe eines Agonisten wie z.B. ADP [43]. Es stehen drei Arten von Kartuschen zur Verfügung, die es möglich machen Reaktion der Thrombozyten auf Aspirin, Thienopyridine und GP IIb/IIIa-Rezeptorantagonisten, ersichtlich zu machen. Diese Methode ist einfacher in der Handhabung da hier Vollblut verwendet werden kann und die Aussagekraft ist gleich der Lichttransmissionsaggregometrie [42].

Multiplate® Analyzer [41]: Ist das Verfahren, dass auf der 1970 von Cardinal und Flowers etabliert Impedanzmessung basiert und neu adaptiert wurde. Durch Zugabe von Agonisten kommt es zur Aggregation der Thrombozyten auf der Oberfläche von Sensordrähten und dies führt zur Zunahme des elektrischen Widerstandes zwischen den Drähten. Die Änderung des Widerstandes beschreibt das Ausmaß der Aggregation. Auch hier kann wieder das Ansprechen der Thrombozyten auf Aspirin, Thienopyridine und GP IIb/IIIa-Rezeptorantagonisten gemessen werden. Der Multiplate® Analyzer hat 5 Kanäle zur gleichzeitigen Messung und die Pipettierschritte werden mit einer automatischen Pipette durchgeführt

Messverfahren mittels Durchflusszytometrie:

- Vasodilatator-stimuliertes Phosphoprotein (VASP) Phosphorylierung: Das vasodilatator-stimulierende Phosphoprotein ist ein inhibitorisches Protein, welches in den Thrombozyten exprimiert wird [44]. VASP spielt in der Aktivierungskaskade des GP IIb/IIIa Rezeptors eine Rolle. Die unphosphorylierte Form ist die aktive Form.

Die Blockade des P2Y₁₂ Rezeptors führt dazu, dass die inaktive phosphorylierte Form zunimmt und somit kann das Ausmaß der Thrombozytenhemmung gemessen werden [41]. Diese Methode ist vor allem zur Messung der Restthrombozytenfunktion nach Thienopyridin-Gabe geeignet [44]. Das Blut muss für die Testung mit Citrat antikoaguliert werden und wird dann mit Prostaglandin E1 oder mit Prostaglandin E1 und ADP versetzt und mit Formaldehyd fixiert [43]. Dann werden speziell markierte Antikörper zugegeben und so die Aktivierten Thrombozyten gekennzeichnet. Die Thrombozytenaktivität wird hier als Plättchenreaktivitätsindex (PRI) bestimmt. Dieses Verfahren erbringt sehr gute Ergebnisse die mit den Ergebnissen der LTA gut korrelieren, die Aufarbeitung der Proben ist aber sehr aufwendig.

- P-selectin und GP IIb/IIIa auf der Plättchenoberfläche, Leukozyten-Thrombozyten-Aggregate [41]: Hier wird die Veränderung der Thrombozytenoberfläche nach Aktivierung beobachtet. Man kann hierfür Vollblut nehmen, aber die Proben müssen ebenfalls aufwendig bearbeitet werden.

Platelet Function Analyzer (PFA)-100: Der Vorteil dieser Methode liegt darin, dass man für die Messung Vollblut verwenden kann [40]. Man lässt Vollblut durch eine Kapillare fließen, die mit einer Membran, mit einer mikroskopisch kleinen Öffnung, beschichtet ist. Die Membran besteht entweder aus Kollagen/ADP oder aus Kollagen/Adrenalin [40]. Die Thrombozytenaggregation wird durch biomechanische Stimuli und Scherkräfte ausgelöst und es bildet sich ein Pfropf an der Membranöffnung. Es wird dann die Verschlusszeit in Sekunden gemessen [40]. Unter Verwendung der Kollagen/Adrenalin bzw. Kollagen/ADP beschichteten Membran wird die Aspirinwirkung bestimmt. Bei dieser Methode muss darauf geachtet werden, dass ADP auch an den P2Y₁ Rezeptor der Thrombozyten binden kann und dies die Messung verfälschen kann. Daher ist es günstig einen P2Y₁ Rezeptorantagonisten zum Blut zuzugeben, wichtig ist, dass dies erst nach der Blockade des P2Y₁₂ Rezeptors passiert [40]. Um diese möglichen Fehlerquellen zu beseitigen wurde das Gerät durch eine neue Messzelle für den P2Y-Rezeptor verbessert.

Die Innovance PFA[®] P2Y bzw. PFA-200 [40], ist nun wie oben beschrieben die Weiterentwicklung der PFA-100 und ist nur für die Testung der Clopidogrelwirkung auf den P2Y₁₂ Rezeptor geeignet. Die Messung erfolgt gleich wie oben beschreiben, jedoch ist die Membran mit ADP und Prostaglandin E1 beschichtet. Prostaglandin E1 dient dazu, den P2Y₁ Rezeptor zu blockieren um eine Verfälschung der Werte zu verhindern. Die Blockade des Rezeptors wird erkannt, indem die ADP-assoziierte Thrombozytenadhäsion und –aggregation über die Verschlusszeit bestimmt wird. Dieses Messverfahren ist noch sehr neu [42].

Plateletworks [41]: Zuerst wird hier die Thrombozytenzahl im Gesamtblut als Referenzwert bestimmt und dann ein Agonist zugegeben, die Agonisten sind die gleichen wie bei anderen Verfahren. Dies führt zur Aggregatbildung und diese Aggregate werden bei der Zählung der Thrombozyten nicht erfasst. Die Differenz zwischen dem Referenzwert und der stimulierten Probe ergibt die Anzahl der inhibierten Thrombozyten, diese werden mittels Thrombozytenzahlbestimmung im Blutbild erfasst. Diese Methode ist noch nicht sehr weit verbreitet und daher gibt es noch nicht sehr viele Erfahrungswerte bezüglich der Aussagekraft.

Residual platelet count [46]: Ist eigentlich eine Weiterführung der Plateletworksmethode. Das Prinzip ist gleich, es erfolgt hier nur die Thrombozytenzahlbestimmung mittels Durchflusszytometrie.

TEG(Thromboelastographie) Platelet Mapping System: Auch hier kann Vollblut verwendet werden. Das Blut wird in eine Küvette gegeben, in der sich ein Stempel befindet, der eine oszillierende Bewegung durchführt [41]. Der Stempel hängt an einem Torsionsdraht [45]. Bei Aktivierung der Gerinnung bilden sich Fibrinstränge zwischen Zylinder und Stempel aus und dadurch wird die Bewegung des Stempels gebremst. Die Veränderung der Viskoelastizität des Blutes wird auf den Stempel und somit auf den Torsionsdraht übertragen und das Ausmaß der Bewegung des Torsionsdrahtes wird in ein Licht- bzw. elektrisches Signal umgewandelt und ausgewertet [45]. Die Ergebnisse dieses Tests können vor allem verwendet werden, um Gerinnungsstörungen, gesteigerte Fibrinlevel und Thrombozytenfunktionsdefekte zu detektieren [45]. Aber es kann auch eine Aussage über das Risiko eines ischämischen Ereignisses innerhalb eines Jahres getroffen werden [41].

Impact Cone and Plate(let) Analyzer [41]: Mit diesem Messverfahren kann die Thrombozytenfunktion unter physiologische Bedingungen quantifiziert werden.

Es wird antikoaguliertes Vollblut auf eine Polystyrol-Oberfläche aufgebracht und ein Kunststoffkegel dreht sich gegen diese Oberfläche wodurch Scherkräfte entstehen und so die Aggregation ausgelöst wird. Hier besteht die Möglichkeit den Test mit und ohne Agonisten durchzuführen. Mittels einer optischen Einrichtung am Messgerät wird die bedeckte Oberfläche als Maß für die Thrombozytenadhäsion sowie die Größe der Aggregate als Maß für die Aggregation bestimmt. Diese Messeinrichtung benötigt nur wenig Probenmaterial und ist einfach durchzuführen, jedoch ist die Aussagekraft sehr beschränkt.

Fibrin receptor activation assay (FRA) [46]: Bei dieser Methode wird mit Citrat antikoaguliertes Blut verwendet. Bei diesem Messverfahren wird über einen speziellen Antikörper die Aktivierung des Fibrinrezeptors GP IIb/IIIa erkannt und als Marker für die Thrombozytenaktivierung verwendet. Die Aktivierung der Thrombozyten findet hier mit ADP statt und um spontane Aggregation zu vermeiden wird die Probe weder gewaschen, zentrifugiert oder gemixt. Um eine Restaktivität des P2Y₁₂ Rezeptors vor Zugabe des Agonisten zu vermeiden wird zuvor ein spezieller Rezeptorantagonist zugegeben. Diese Methode hat eine sehr geringe Variationsbreite und kann eigentlich nur zur Testung eines P2Y₁₂ Rezeptorantagonisten verwendet werden. Die Ergebnisse sind aber mit der LTA gut vergleichbar.

2 Fragestellung und Ziel der Diplomarbeit

2.1 Fragestellung

Die Kernfragestellung besteht darin, ob bei Patienten nach PCI mit Stentimplantation der P2Y₁₂ Thrombozytenrezeptor durch Clopidogrel blockiert wird. Bis lang ist man davon ausgegangen, dass Clopidogrel seine Wirkung bei allen Patienten unabhängig von ihren individuellen Unterschieden erfüllt. Daten zeigen aber, dass es bei 14-18% der Patienten trotz der Einnahme von Clopidogrel in Kombination mit Aspirin zu einer Thrombose des Stents kommt [47]. Es liegt also nahe, dass bei jener Population die Blockade des Rezeptors nur ungenügend oder überhaupt nicht erfolgt.

2.2 Ziel

Das Ziel der Diplomarbeit war der systematische Nachweis der Clopidogrelfunktion, bei Patienten nach elektiver PCI mit Stentimplantation, unter der Verwendung verschiedener labortechnischer Methoden zur Thrombozytenfunktionsmessung. Sowie die Bestimmung des Outcomes dieser Patienten durch ein 6 Monats Follow- Up.

3 Material und Methoden

3.1 Patientengut

Das Patientengut bestand aus Patienten, die mit seit einigen Tagen bis Wochen anhaltenden Angina pectoris-artigen Beschwerden an das LKH-Graz kamen oder bereits stationär waren und sich dort einem elektiven Herzkatheter-Eingriff unterzogen. Im Zuge der Herzkatheteruntersuchung wurde eine Verengung eines oder mehrerer Herzkranzgefäße festgestellt, die es nötig machte dieses/e Gefäß/e mittels Stentimplantation zu sanieren. Alle diese Patienten wurde dann im Herzkatheterlabor mit einer loading dose Clopidogrel und Aspirin versorgt und für weitere 48h stationär aufgenommen.

3.1.1 Einschlusskriterien

- 1.) Es durften nur elektive Patienten aufgenommen werden
- 2.) Die Patienten mussten im Katheterlabor geloadet werden, das heißt sie durften unmittelbar davor keine Thrombozytenaggregationshemmer eingenommen haben.
- 3.) Die Patienten wurden vor Aufnahme in die Studie aufgeklärt und mussten eine Einwilligungserklärung unterschreiben, welche von der Ethikkommission genehmigt worden war.

3.1.2 Ausschlusskriterien

- 1.) Notfallmäßige Koronareingriffe (Akutpatienten wie z.B. akuter Myokardinfarkt)
- 2.) Alter < 18 Jahren
- 3.) Schwangere
- 4.) Patienten mit intrazerebralen oder schweren Blutungen in der jüngeren Vorgeschichte.

3.2 Allgemeine Durchführung

Die Patienten wurden während der PCI gestentet, mit Clopidogrel und Aspirin geloadet und stationär aufgenommen. Als weiterführende Therapie erhielten die Patienten eine Standarddosis Clopidogrel (75mg) und Aspirin. Nach Erfüllung aller Einschlusskriterien, nach Aufklärung und nachfolgender Unterschrift der Einwilligungserklärung erfolgte 24h nach Load eine Blutabnahme.

Es wurde Blut mit EDTA, Citrat und Hirudin als antikoagulans abgenommen.

Das Blut wurde dann so rasch als möglich mit dem zugehörigen Anforderungsbeleg zum Labor gebracht. Folgende Daten mussten auf dem Belegschreiben ausgefüllt sein:

- Fortlaufende Patientenummer
- Allgemeine Daten des Patienten (Patientenetikett mit Barcode)
- Diagnose und Grund der Intervention
- Datum und Uhrzeit der Intervention
- Datum und Uhrzeit des Loadings mit Clopidogrel
- Datum und Uhrzeit der Blutabnahme
- Eingenommene Medikamente (Aspirin, Clopidogrel bzw. Prasugrel, Protonenpumpeninhibitoren)

Die erforderlichen Daten für den Anforderungsbeleg wurden aus dem Patientenverwaltungsprogramm XSims des Herzkatheters und aus MEDOCS entnommen.

Im Labor wurde dann die Thrombozytenfunktionsmessung mit folgenden Verfahren durchgeführt:

- Chronolog optische Aggregometrie
- Multiplate
- PFA-100
- Verify Now
- VASP
- Automatische Optische Hochdurchsatz Aggregometrie: Mit der Flexstation

Die Thrombozytenfunktion wurde mit verschiedenen Methoden gemessen, um die so erhaltenen Ergebnisse untereinander zu vergleichen und die Ergebnisse so objektivierbar zu machen.

Die Auswertung erfolgte jedoch anhand der etablierten Methode, der LTA, die anderen Methoden wurden lediglich damit verglichen, um zu zeigen, ob die Ergebnisse übereinstimmen. Das Blut der Patienten wurde noch am selben Tag ausgewertet. Wurde der P2Y₁₂ Rezeptor durch Clopidogrel blockiert, das heißt der Patient hatte eine suffiziente Thrombozytenaggregationshemmung, wurde der Patient vom Labor als Responder eingeteilt. Die Responder konnten dann mit der Standarddosis Aspirin und Clopidogrel 48h nach dem Eingriff entlassen werden. Ergab sich jedoch durch die Messung im Labor, dass der Patient ein Non Responder war, wurde diese Information an die für den Patienten zuständige Abteilung weiter geleitet und es erfolgte eine Umstellung auf Prasugrel und der Patient erhielt noch am gleichen Tag eine loading dose von 60mg Prasugrel. Als weiterführende Therapie erhielten diese Patienten dann eine Standarddosis Prasugrel (10mg) und Aspirin. Bei diesen initialen Clopidogrel Non-Respondern erfolgt dann nach weiteren 24h eine erneute Blutabnahme und Bestimmung der Thrombozytenfunktion unter Prasugrel. Ergab die Messung dann eine suffiziente Thrombozytenfunktionshemmung wurde der Patient mit dieser Therapie nach Hause geschickt.

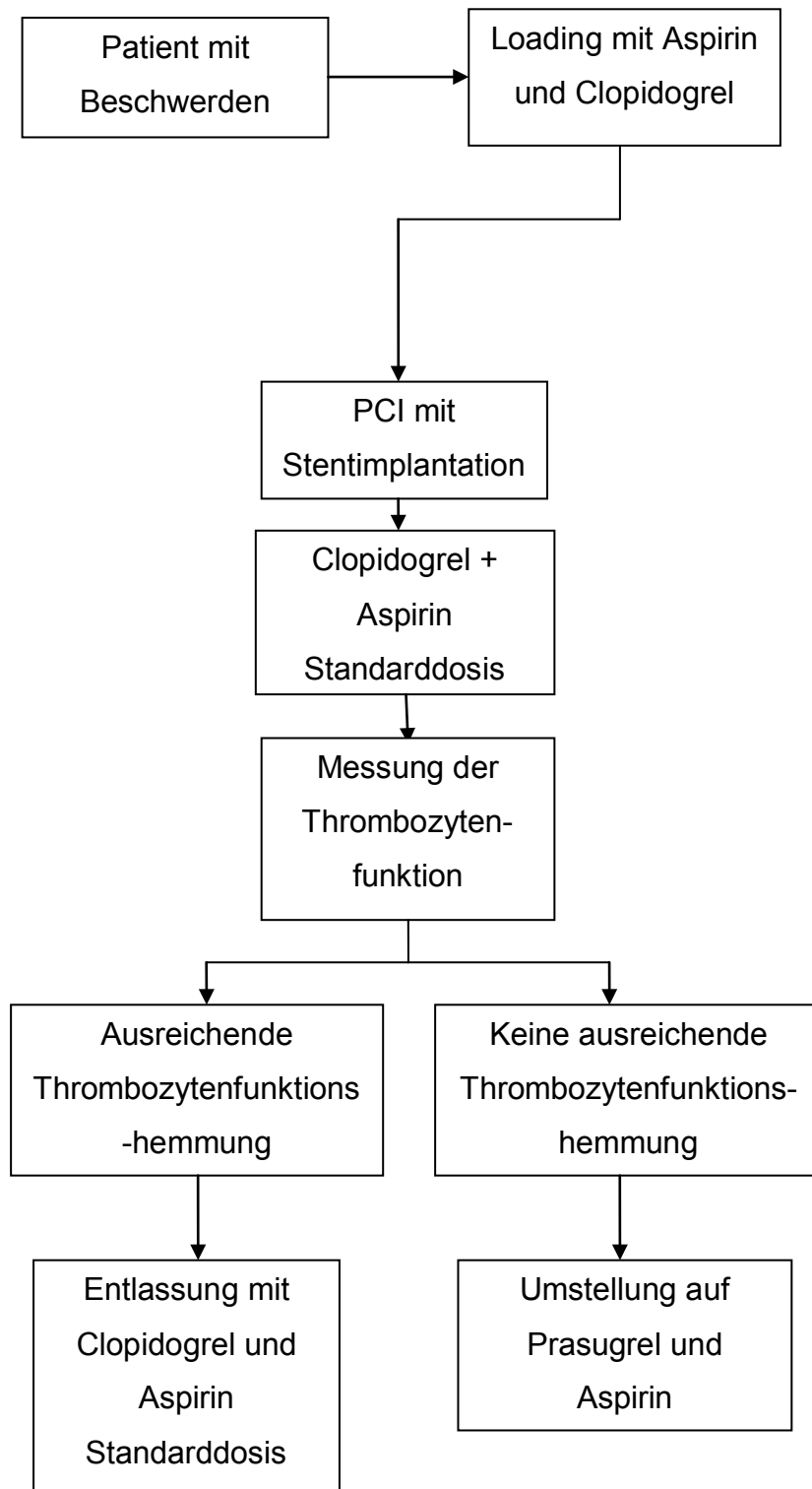


Abbildung 3: Darstellung der Durchführung

Von den eingeschlossenen Patienten wurden noch folgende Daten ermittelt:

- Alter
- Geschlecht
- Körpergröße und Gewicht
- Familiäre Vorbelastung in Bezug auf Herzerkrankungen
- Risikofaktoren wie (Hyperlipidämie, Diabetes mellitus, Hypertonie)
- Raucher/ Nicht-Raucher
- Medikamente
- Frühere Myokardinfarkte oder PCI's mit Stentimplantation

Diese Informationen wurden aus den Fieberkurven der Patienten entnommen und mit MEDOCS Daten vervollständigt.

Alle eingeschlossenen Patienten wurden anschließend nach sechs Monaten telefonisch kontaktiert. Durch dieses Gespräch, sollte der derzeitige Gesundheitszustand der Patienten erfasst werden, um so das Outcome der Patienten mit ihrer aktuellen TAH-Therapie zu ermitteln. Es wurden folgende Fragen via Interview ermittelt.

- Krankenhausaufenthalte (v.a. kardial bedingt) seit Stentimplantation
- Notwendigkeit der Durchführung einer weiteren Koronarangiographie
- Notwendigkeit einer neuerlichen PCI (Stentredilatation oder neuer Stent an der gleichen Stelle)
- Notwendigkeit einer Bypass-OP wegen eines Stentverschlusses
- Beschwerden in der letzten Zeit bei Belastung oder in Ruhe (Stechen, Druckgefühl in der Brust, Atemnot)
- Ob sie in der letzten Zeit ähnliche Beschwerden hatten wie vor 6 Monaten vor dem Krankenhausaufenthalt
- Blutungsereignisse: Gastro-intestinal , Cerebral, sonstige
- Todesfälle: Wenn ja, woran (kardial oder nicht-kardial); Plötzlich oder progrediente Verschlechterung

4 Ergebnisse

4.1 Allgemeine Daten

Es wurden insgesamt 14 Patienten eingeschlossen, die allen Kriterien entsprachen. Von diesen 14 Patienten waren 10 männlich (71%) und 4 weiblich (29%). Das mittlere Alter der Patientenpopulation betrug 71,07 Jahre (SD± 9,97)

Patientennummer	Alter [Jahre]	Geschlecht	BMI [kg/m ²]
001-LM	74	w	32,3
002-HY	52	m	28
003-SM	81	w	22,5
004-WW	70	m	20,2
005-JT	69	w	22,6
006-AI	63	m	24,9
007-RA	74	m	20,9
008-PF	75	m	38
009-DM	80	w	26,5
010-BE	79	m	29,7
011-DA	74	m	28,3
012-GA	51	m	33,3
013-DA	69	m	25,2
014-SG	84	m	24,8

Tabelle 2: Allgemeine Patientencharakteristika

4.2 Allgemeine Ergebnisse

Von den aufgenommenen Patienten wurde die Antwort des P2Y₁₂-Rezeptors, auf eine loading dose von 600mg Clopiogrel bestimmt, weiters bekamen alle oben angeführten Patienten 100mg Acetylsalicylsäure wie es laut den gängigen Guidelines üblich ist [34]. In den folgenden Tabellen und Graphiken werden die Ergebnisse der Thrombozytenfunktionsmessung dargestellt.

Es werden im Folgenden nur die Ergebnisse mit den Agonisten dargestellt die für eine Aktivierung der Aggregation am P2Y₁₂-Rezeptor und somit für die Clopidogrelwirkung ausschlaggebend sind.

Alle Messungen wurden aber auch mit den Agonisten der Aspirinwirkung (Arachidonsäure, Collagen), um den Einfluss von Aspirin zu zeigen. Diese Messungen ergaben, dass bei allen Patienten eine ausreichende Aspirinwirkung vorhanden ist. Weiters erfolgte eine Messung als Positivkontrolle mittels TRAP-Zugabe.

Patientennummer	Optische Aggregometrie [%]	VASP [%]	Flexstation [%]
001-LM	91	81,3	74,3
002-HY	26	76,7	15,1
003-SM	26	0	22,8
004-WW	16	22,8	5,1
005-JT	12	47,2	1,6
006-AI	27	0	40,5
007-RA	9	44,9	0,0
008-PF	31	17,5	9,0
009-DM	92	43,4	64,9
010-BE	39	22,3	0,0
011-DA	37	6,6	23,8
012-GA	10	23,3	0,0
013-DA	34	61,8	Nd
014-SG	82	79,3	Nd

Tabelle 3: Labordaten 1

Die Tabelle 3 gibt die Einzelergebnisse der Patienten bei den Messmethoden optische Aggregometrie, VASP und der Flexstation wieder. Aus der Tabelle sind nun die Aggregations-Werte der einzelnen Patienten heraus zu lesen. Für diese drei Methoden gilt, dass Werte < 50% eine Hemmung der TA gewährleisten.

Bei Patient 013 erfolgte keine Messung mit der Flexstation, da hierfür nicht genügend Blut vorhanden war. Bei Patient 014 erfolgte eine Messung mit der Flexstation nur nach Medikamentenumstellung. Fehlende Laborwerte wurden nicht in die Auswertung mit einbezogen.

Wie bereits oben erwähnt ergibt sich eine suffiziente Hemmung des P2Y₁₂-Rezeptors bei einem Wert <50%. Jene Patienten die Aggregations-Werte unter 50% aufwiesen konnten so mit diesen Methoden als Responder bewertet werden, alle Patienten mit einem Wert >50% als Non-Responder.

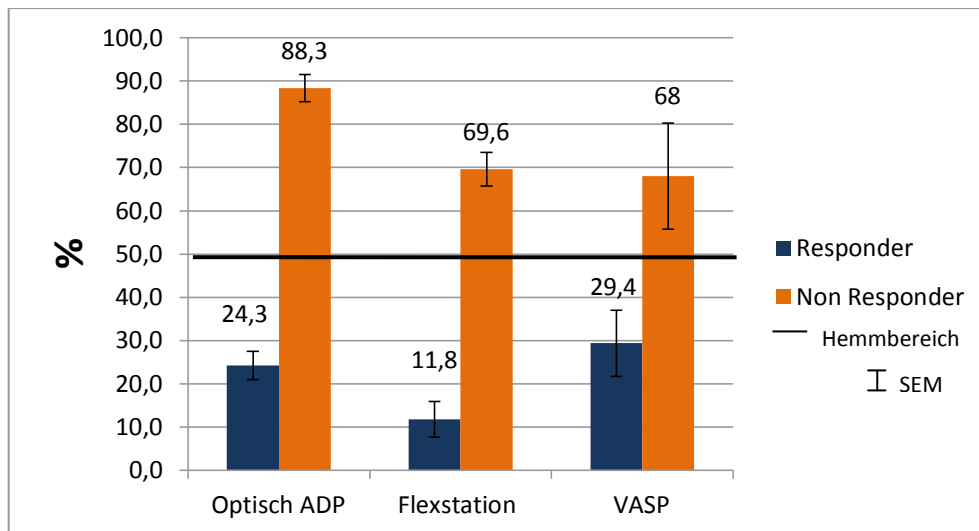


Abbildung 4: Darstellung (optische Aggregometrie, VASP, Flexstation)

Für die Abbildung 4 wurden die Mittelwerte der Responder und Non-Responder in den einzelnen Messverfahren herangezogen und graphisch dargestellt. Bei der optischen Messung und der Flexstation wird die Aggregation in Prozent, beim VASP wird der PRI in Prozent dargestellt. Es ist nun deutlich zu erkennen, dass die Non-Responder im Mittel über dem Hemmbereich liegen, welcher hier als schwarze Linie gekennzeichnet wurde, während die Responder im Mittel unter der 50% Marke liegen und somit eine suffiziente Blockade des Rezeptors aufweisen.

Patientennummer	Optische Aggregometrie [AUC]	Multiplate (ADP) [AU]	PFA-100 (P2Y) [Sec.]	Verify Now [%]
001-LM	810,9	44,6	97	16
002-HY	58,5	57,4	300	65
003-SM	27,4	75	300	86
004-WW	9,5	28,5	300	51
005-JT	6	60	300	60
006-AI	216,7	52,9	300	67
007-RA	3,4	44,6	300	83
008-PF	163	41,6	105	21
009-DM	828,6	0	300	91,6
010-BE	86	40,1	68	46
011-DA	117	46,9	300	85
012-GA	3,8	39,8	300	85
013-DA	62,3	48,8	97	96
014-SG	729,3	14,6	259	0

Tabelle 4: Labordaten 2

Die Tabelle 4 macht die Ergebnisse der einzelnen Patient bei den Messverfahren Multiplate, PFA-100 und Verify Now ersichtlich. Die Daten der optischen Aggregometrie werden hier nochmals angeführt, da diese Methode die Messwerte zusätzlich optisch ausgibt und sich daher eine Area under the curve (AUC) ergibt. Verify Now gibt Prozentwerte aus jedoch sind diese, da es sich um berechnete Werte handelt so zu interpretieren, dass >50% eine Hemmung darstellt.

Hatte nun ein Proband bei diesen Verfahren eine hohe AUC, eine Verschlusszeit < 106 sec. oder bei Verify Now einen Wert <50%, konnte er als Non-Responder gewertet werden.

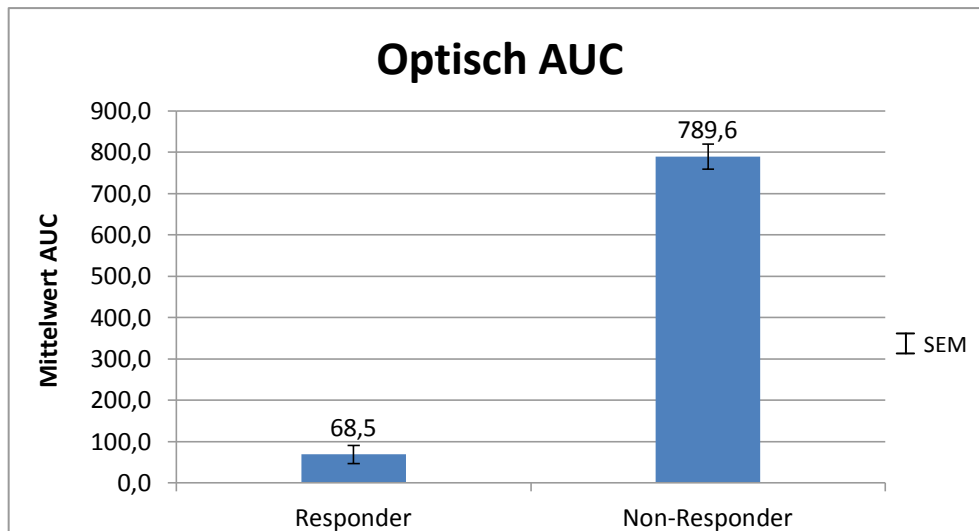


Abbildung 5: Darstellung optisch AUC

Die Abbildung 5 zeigt, dass die Non-Responder im Mittel viel höhere AUC-Werte hatten.

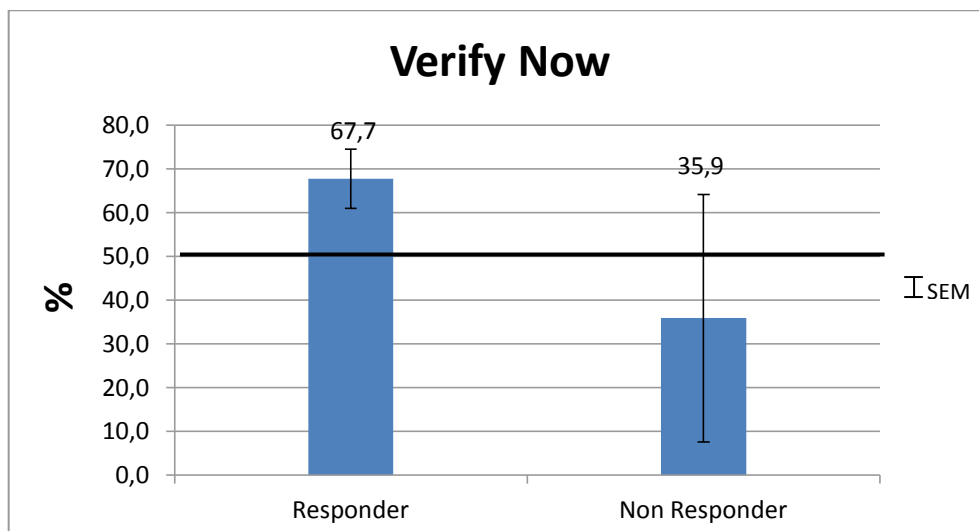


Abbildung 6: Darstellung Verify Now

Abbildung 6 stellt die Verify Now Ergebnisse dar. Hierfür wurden jeweils die Mittelwerte der Responder und Non-Responder verwendet. Die schwarze Linie zeigt die 50% Marke an, ein Überschreiten derselben war als Responder zu werten. Wie oben zu sehen liegen die Non Responder unter dieser Grenze.

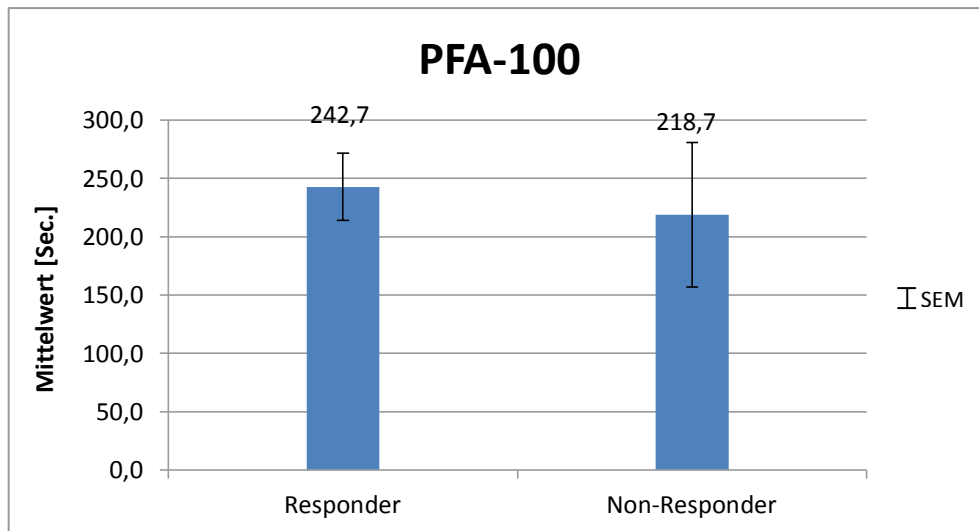


Abbildung 7: Darstellung PFA-100

Die PFA-100 misst die Verschlusszeit in Sekunden. Eine Hemmung der Thrombozytenfunktion führt also zu einer Verlängerung der Verschlusszeit. Aus der Abbildung 7 wird deutlich, dass die Responder im Mittel eine längere Verschlusszeit als die Non-Responder aufweisen. Das heißt, dass bei den Non-Respondern keine adäquate Hemmung der Thrombozytenfunktion besteht und es hier daher zu einer verkürzten Verschlusszeit gegenüber den Respondern kommt.

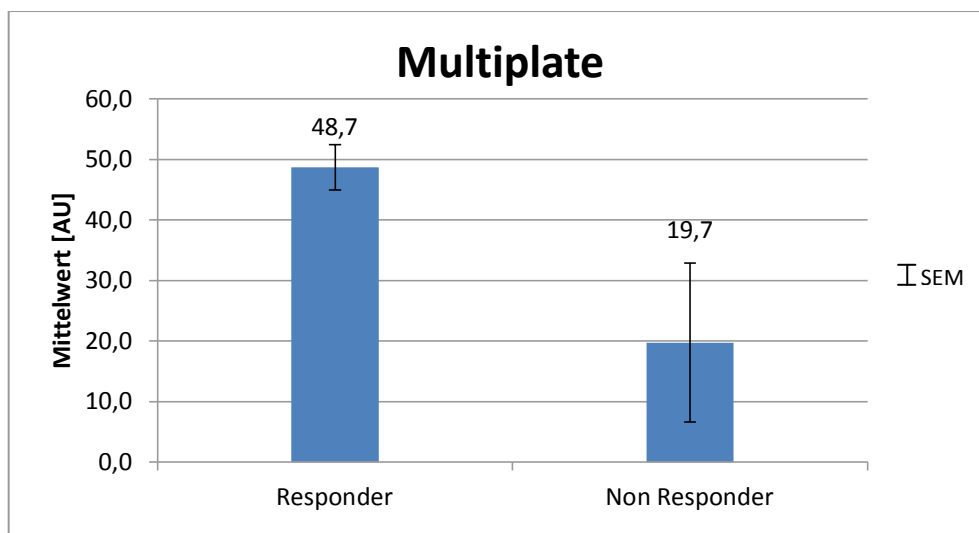


Abbildung 8: Darstellung Multiplate

Beim Multiplate Verfahren gilt eine Hemmung des P2Y₁₂ Thrombozytenrezeptors dann als gegeben wenn der aggregation Unit-Wert (AU-Wert) unter 47 liegt.

Die Messwerte dieses Verfahrens waren nicht zufriedenstellend und wie in Abbildung 8 ersichtlich, unterschieden sich die Ergebnisse dieses Verfahrens von der LTA. Anhand der LTA konnte also bestimmt werden, dass 11 (78,6%) der Patienten eine suffiziente Hemmung der Thrombozytenfunktion hatten und somit Responder waren, während 3 (21,4%) der Patienten einen Non-Responder-Status aufwiesen. Bei diesen Patienten war eine suffiziente TAH nicht gewährleistet.

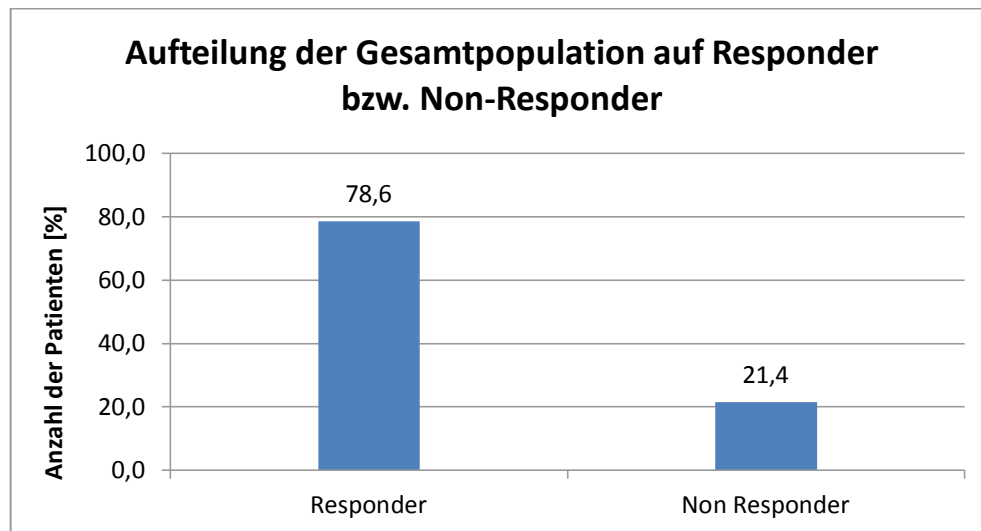


Abbildung 9: Aufteilung der Gesamtpopulation auf Responder bzw. Non-Responder

Abbildung 9 stellt nun dar, wie viel Prozent von der gesamt Population, als Responder bzw. Non-Responder identifiziert werden konnten.

Die Zuteilung des Responderstatus erfolgt mit der LTA die Ergebnisse der anderen Messmethoden wurden lediglich vergleichend einbezogen.

4.3 Auswertung der Daten in Bezug auf den Responderstatus

Es folgt eine Analyse der Daten aufgeteilt über die Gruppen in Bezug auf Alter, Geschlecht, BMI, verschriebene Medikamente, Risikoprofil und der Stentlokalisierung bzw. des verwendeten Stentmaterials.

Responder-Status	Mittleres Alter [Jahre]	Anzahl n	Standardabweichung
Responder	68,8	11	±9,89
Non-Responder	79,3	3	±5,03
Total	71,0	14	±9,97

Tabelle 5: Altersaufteilung

Responder-Status	Mittlerer BMI [kg/m ²]	Anzahl n	Standardabweichung
Responder	26,7	11	±5,48
Non-Responder	27,9	3	±3,93
Total	26,9	14	±5,07

Tabelle 6: Aufteilung BMI

4.3.1 Geschlechterverteilung

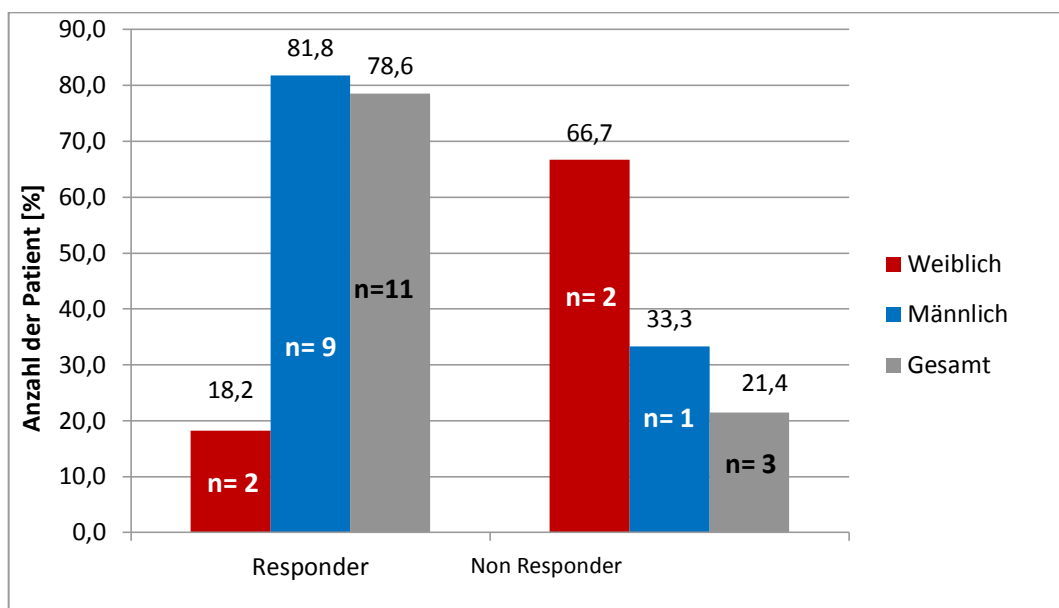


Abbildung 10: Darstellung der Geschlechterverteilung

Aus Tabelle 7 und Abbildung 10 ergibt sich, dass unter den Responder 2 (18,2%) Frauen und 9 (81,8%) Männer sind, während in der Non-Responder Gruppe die Frauen mit 2 (66,7%) gegenüber den Männern mit 1 (33,3%) den größeren Anteil ausmachen.

4.3.2 Verteilung innerhalb der BMI-Klassen

Laut der WHO-Adipositas Klassifikation, liegt der Normal-Wert des BMI's bei 18,50-24,99 kg/m², als Prä-Adipositas wird ein Wert zwischen 25,00-29,99 kg/m², Adipositas I als ein Wert zwischen 30-34,99 kg/m² und Adipositas II als ein Wert zwischen 35,00-39,99 kg/m² bezeichnet [48]

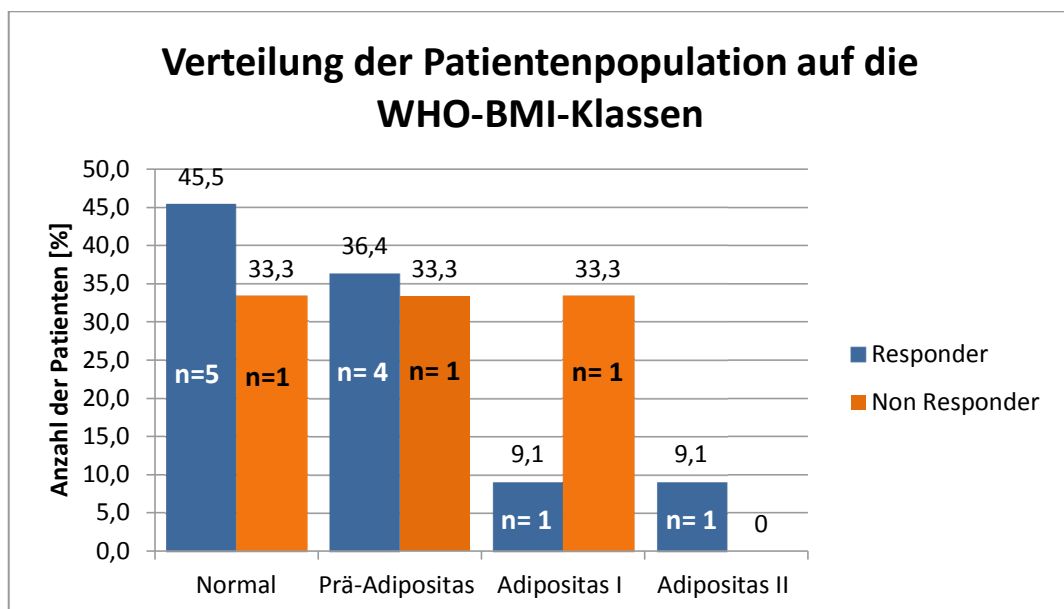


Abbildung 11: Verteilung der BMI-Klassen über die Gruppen

Aus der Abbildung 11 ist erkennbar, dass sich die Non-Responder sehr gleichmäßig über die einzelnen BMI-Klassen verteilen.

4.3.3 Verwendete Stenttypen und Stentlokalisierung

Das Stentmaterial, sowie die Lage des Stents spielen eine Rolle bei der Ausbildung einer Stent-Thrombose [17]. Die Lokalisation der gestenteten Stenose hat im Falle einer Stentthrombose auch Einfluss auf die Größe des betroffenen Myokardareals, dies kann wiederum einen Einfluss auf den Outcome der Patienten haben. Darum erfolgte jeweils für Responder und Non-Responder eine graphische Darstellung dieser Faktoren.

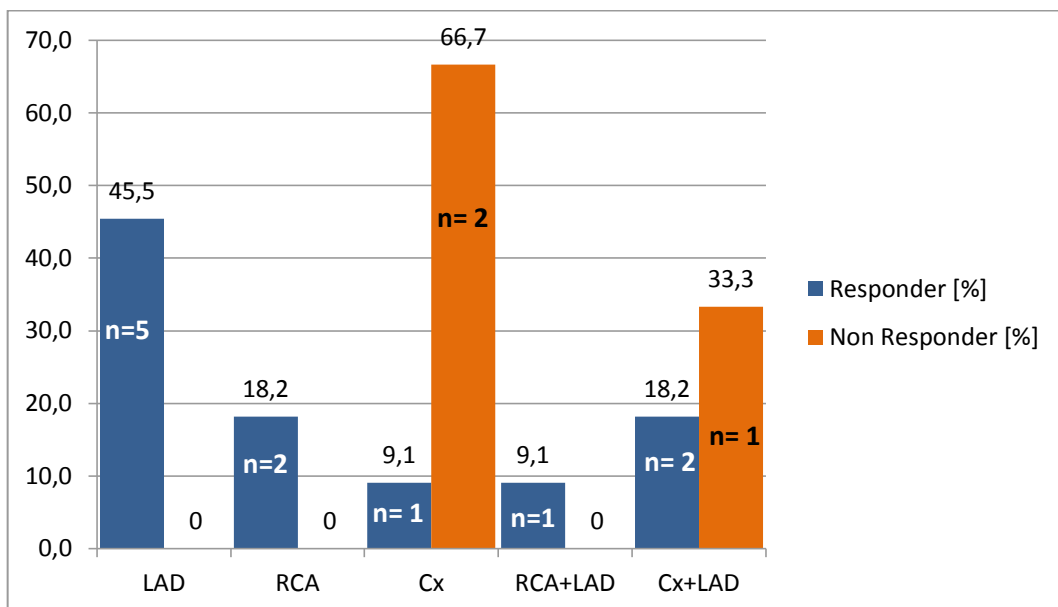


Abbildung 12: Darstellung Stentlokalisierung

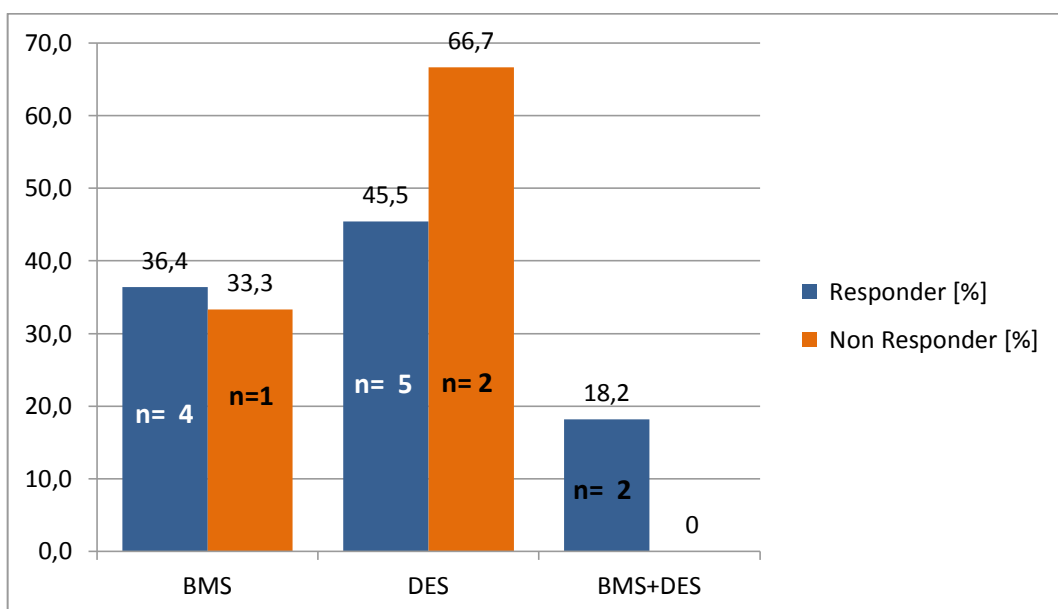


Abbildung 13: Darstellung Stenttypen

4.3.4 Risikoprofil und Medikamentenverteilung

Da die Literatur angibt, dass die Wirkung von Clopidogrel auf den P2Y₁₂-Rezeptor durch diverse Medikamente beeinflusst wird, wurde das Risikoprofil für KHK, sowie die Medikamentenverteilung, ebenfalls über die beiden Gruppen, dokumentiert und graphisch dargestellt.

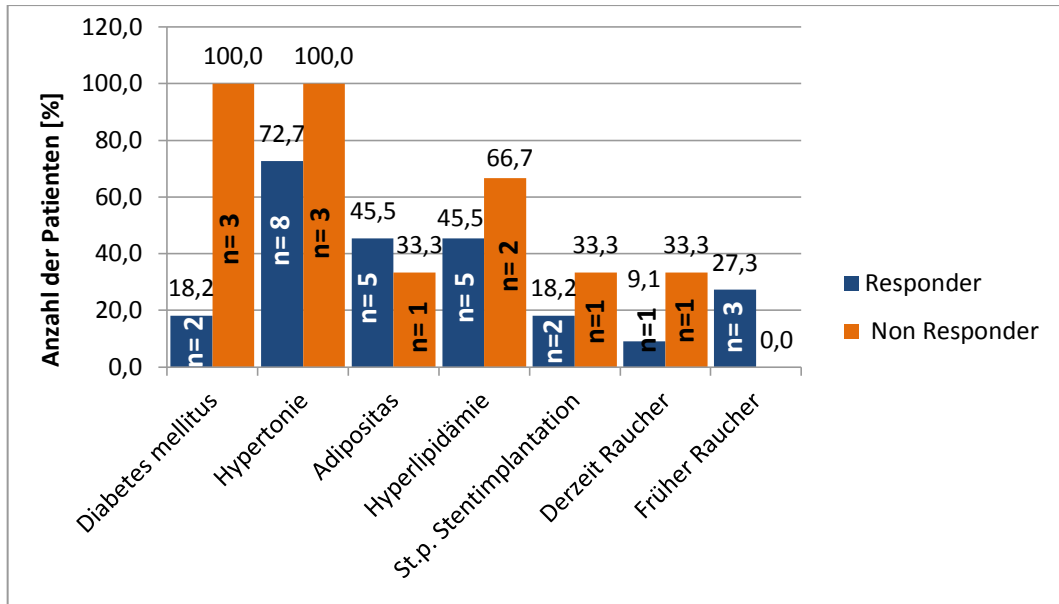


Abbildung 14: Darstellung Risikoprofil

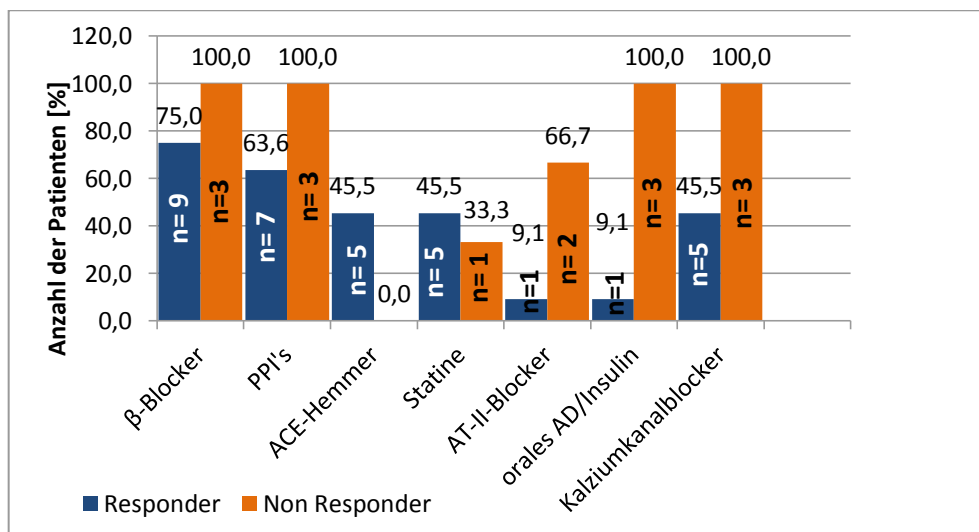


Abbildung 15: Darstellung Medikamentenverteilung

In Abbildung 14 ist zu sehen, dass Non-Responder rein prozentuell vermehrt Diabetiker sind und in ihrer Vorgeschichte bereits eine Stentimplantation stattgefunden hat. Neuste Studien belegen ebenfalls, dass Diabetiker einen höheren Fibrinogenlevel aufweisen, dies könnte ein Grund für die gesteigerte Thrombozytenaggregation und das damit einhergehende schlechtere Ansprechen auf Clopidogrel sein [48]. In Abbildung 15 ist zu sehen, dass die Non-Responder prozentuell vermehrt PPI's einnehmen, auch den PPI's wird zugesprochen, dass sie einen Einfluss auf die Wirkung von Clopidogrel haben [39].

4.3.5 Gerinnungswerte

Im Folgenden wird auf die Gerinnung der Patienten eingegangen. Die Referenzwerte liegen bei Fibrinogen zwischen 210-400mg/dl, bei der APTT zwischen 26-36 Sek., bei der AT zwischen >75 und bei der PZ 70-120% [50].

	Fibrinogen [mg/dl]	APTT [Sek.]	ATIII[%]	PZ [Sek.]
Responder	394,9 ± 90,1	31,6 ± 4,1	97,6 ± 11,1	85 ± 19,7
Non Responder	407,6 ± 93,3	30,4 ± 2,9	97,3 ± 13,6	108 ± 14,8

Tabelle 7: Gerinnungswerte

Die Tabelle 7 zeigt die Gerinnungswerte der Patienten im Mittel aufgeteilt auf Responder und Non-Responder. Es ist zu sehen, dass beide bei den angeführten Gerinnungswerten im Normbereich liegen und dass es keine auffälligen Unterschiede gibt zwischen Respondern und Non-Respondern

4.4 Ergebnisse nach Umstellung der Non-Responder auf Prasugrel

Nach der Umstellung der Non-Responder erfolgte eine erneute Bestimmung der Thrombozytenfunktion. Diese Messung sollte beweisen dass mit der Therapieumstellung eine ausreichende Hemmung erzielt wird.

Patientennummer	Optische Aggregometrie [%]		Flexstation [%]		VASP [%]	
	Clopidogrel	Prasugrel	Clopidogrel	Prasugrel	Clopidogrel	Prasugrel
001-LM	91	31	74,3	36,4	81,3	18,5
009-DM	92	56,6	64,9	Nd	43,4	0
014-SG	82	17	Nd	38,1	79,3	0

Tabelle 8: Vergleich Clopidogrel vs. Prasugrel (optisch Aggregometrie, Flexstation, VASP)

Die oben angeführte Tabelle gibt die Laborwerte der Non-Responder vor und nach Umstellung der Medikation wieder. Dargestellt wird die Aggregation in % (mit den Methoden Flexstation, optischer Aggregometrie und VASP), während Clopidogrel-Einnahme und später nach Umstellung auf den potenteren P2Y₁₂ Rezeptorblocker Prasugrel. Bei Patient 009 konnte nach Umstellung des Medikaments keine Messung mit Flexstation durchgeführt werden, da zu wenig Probenmaterial vorhanden war, weiters ist die Messung bei diesem Patienten mit der optischen Aggregometrie über dem Normalwert, da der Patient morgens das Medikament nicht eingenommen hatte. Bei Patient 014 erfolgte eine Messung mit Flexstation nur nach der Umstellung. Fehlende Laborwerte wurde nicht in die Auswertung mit einbezogen.

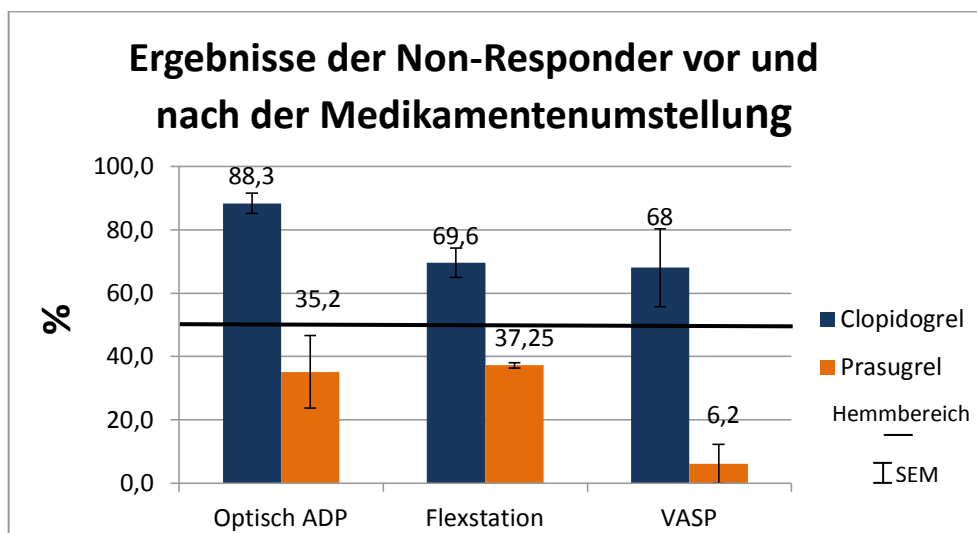


Abbildung 16: Darstellung der Mittelwerte vor und nach Medikamentenumstellung (optische Aggregometrie, VASP, Flexstation)

In der Abbildung 16 sind die Mittelwerte der Non-Responder vor und nach Umstellung zu sehen. Es wird deutlich, dass die Non-Responder nach der Umstellung auf Prasugrel unter der 50% Marke, welche wieder durch eine schwarze Linie dargestellt wird, liegen.

Aus der Abbildung geht nun hervor, dass die Non-Responder nach Umstellung auf Prasugrel, mit den angeführten Labormethoden im Hemmbereich liegen. Somit wird für diese Probanden eine ausreichende Hemmung der Thrombozytenfunktion gewährleistet ist.

Patientennummer	Optisch AUC	
	Clopidogrel	Prasugrel
001-LM	810,9	156,8
009-DM	828,6	465,2
014-SG	729,3	8,8

Tabelle 9: Vergleich Clopidogrel vs. Prasugrel (optisch AUC)

Weiters wurde auch hier die optische Aggregometrie zusätzlich mit der AUC ausgewertet. Tabelle 14 zeigt die AUC Werte der als Non-Responder identifizierten Patienten während Clopidogrel-Einnahme und nach Umstellung auf Prasugrel.

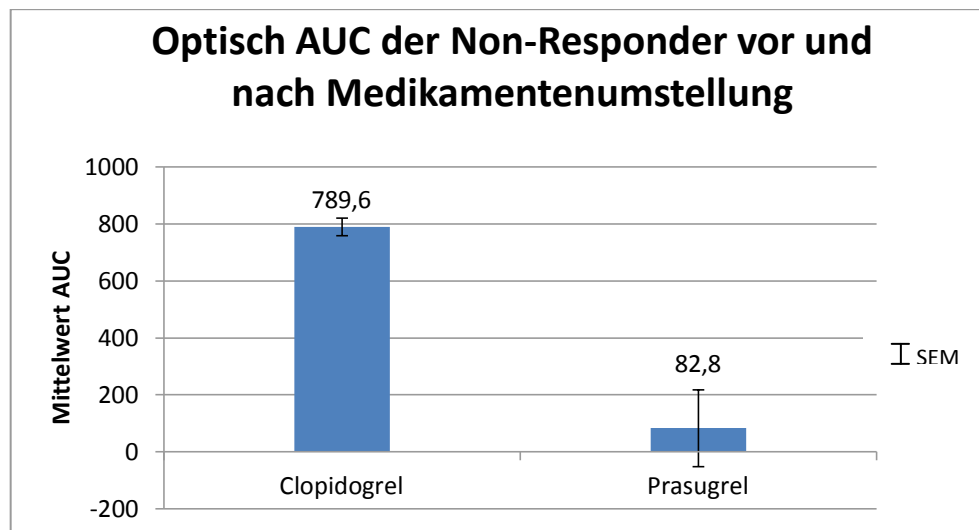


Abbildung 17: Darstellung der Mittelwerte vor und nach Medikamentenumstellung (optisch AUC)

Hier ist ebenfalls sehr gut zu erkennen, dass im Mittel ein starker Abfall der AUC nach Umstellung auf Prasugrel erfolgt.

Daraus ergibt sich also, dass die Non-Responder nach Umstellung auf Prasugrel eine deutlich geringere TA aufweisen und daher kann von einer suffizienten Thrombozytenfunktionshemmung ausgegangen werden.

Patientennummer	Multiplate [AU]		PFA-100 [Sec.]		Verify Now [%]	
	Clopidogrel	Prasugrel	Clopidogrel	Prasugrel	Clopidogrel	Prasugrel
001-LM	44,6	37,1	97	285	16	74
009-DM	0	81,4	300	300	91,6	66,1
014-SG	14,6	33,8	259	300	0	81

Tabelle 10: Vergleich Clopidogrel vs. Prasugrel (Multiplate, PFA-100, Verify Now)

In Tabelle 15 werden nun die Mittelwerte der Non-Responder vor und nach Umstellung der Medikation mit den Methoden Multiplate, PFA-100 und Verify Now aufgeführt. Es gilt auch hier eine AU von 47, eine Verschlusszeit von 100 und ein Wert von 50% für Verify Now, als zu erreichende Grenze, um eine ausreichende Wirkung des Medikaments zu gewährleisten.

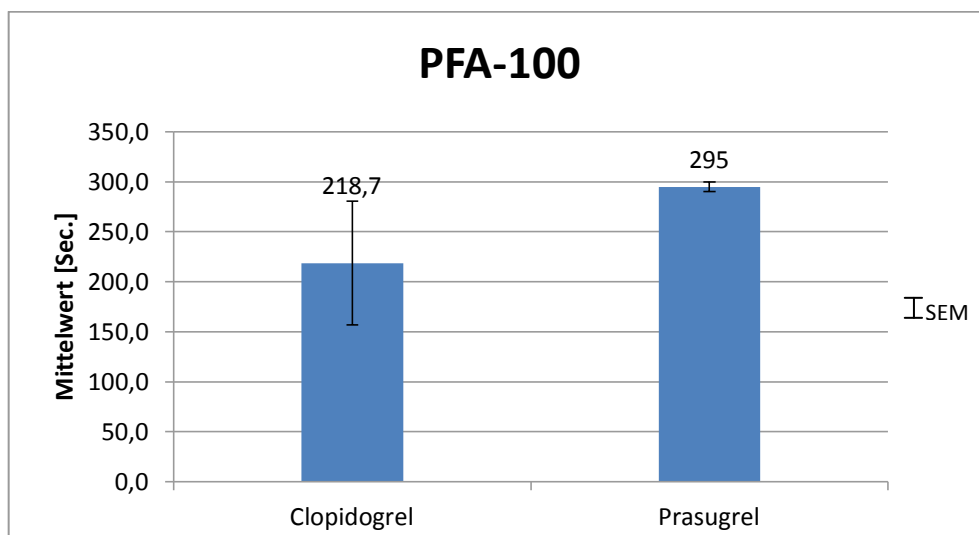


Abbildung 18: Darstellung der Mittelwerte vor und nach Medikamentenumstellung (PFA-100)

In Abbildung 18 nimmt die Verschlusszeit [Sek.] unter Prasugrel zu. Damit kann eine verbesserte Hemmung des Thrombozytenrezeptors angenommen werden, denn der optimale Hemmbereich liegt zwischen < 300 Sekunden. Unter Prasugrel-Therapie liegen die vormaligen Non-Responder nun im Optimalbereich.

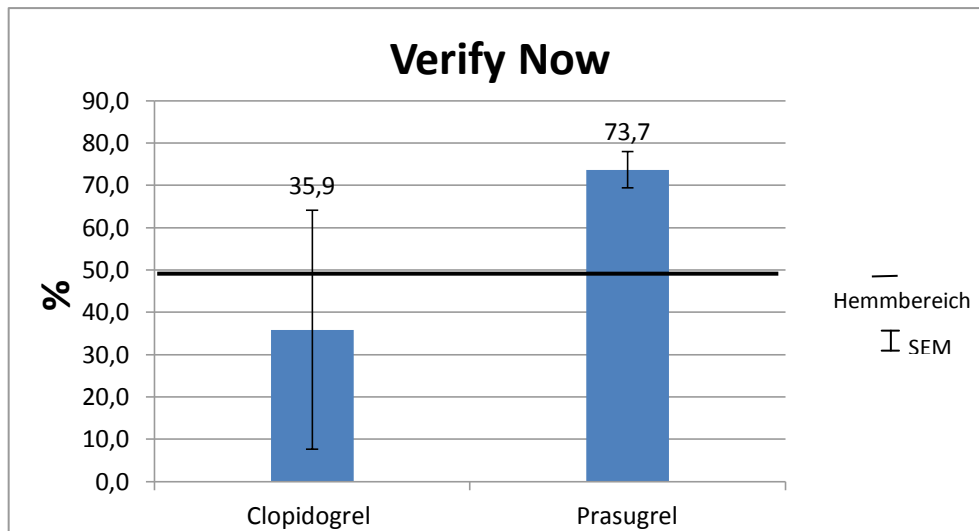


Abbildung 19: Darstellung der Mittelwerte vor und nach Medikamentenumstellung (Verify Now)

In Abbildung 19 ist nach Umstellung ebenfalls zu sehen, dass die Non-Responder den Sollwert von >50% (als schwarze Linie dargestellt) überschreiten.

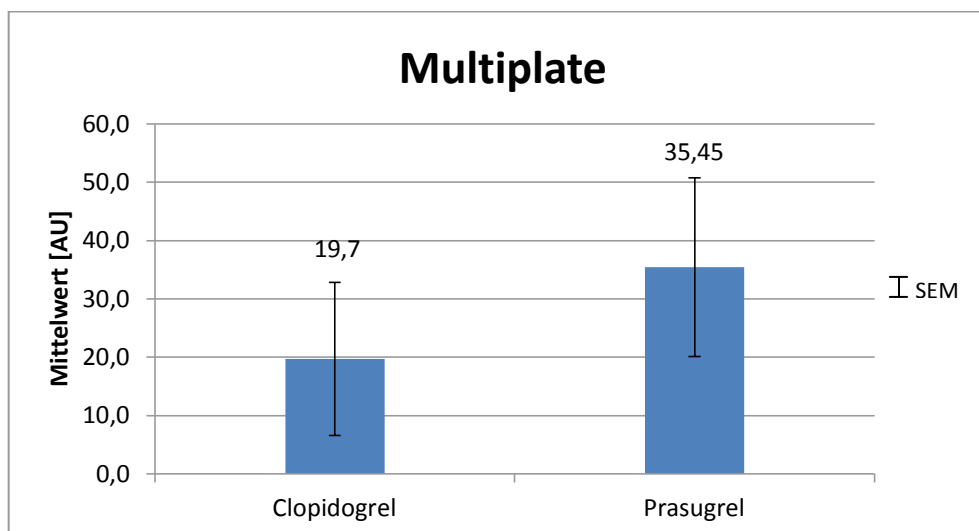


Abbildung 20: Darstellung der Mittelwerte vor und nach Medikamentenumstellung (Multiplate)

In Abbildung 20 zeigt sich entgegen den Ergebnissen der anderen Messverfahren, dass bei der Multiplate-Methode im Mittel, vor der Umstellung schon eine Hemmung des Rezeptors erfolgt (Hemmbereich 47 AU). Hier zeigt sich sogar, dass die Wirkung mit Prasugrel geringer wird. Dies widerspricht allen anderen Ergebnissen und da diese Methode viele Schwachstellen aufweist kann hier die Richtigkeit der Ergebnisse bezweifelt werden.

4.5 Ergebnisse der Follow-Up's

Im Zuge des Follow-Up's wurde versucht, alle Patienten je sechs Monate nach ihrem stationären Aufenthalt zu erreichen. Die Erfassung erfolgte mittels kurzen Telefonanrufs. Die nötigen Kontaktdaten, wie Telefonnummer und Wohnadresse, wurden teils direkt von den Patienten erfragt oder aus MEDOCS entnommen. Im Zuge der Aufklärung gaben alle Probanden ihr Einverständnis zur Telefonbefragung.

Alle 14 Patienten konnten in das Follow Up eingeschlossen werden und wie schon beschrieben wurden die Probanden zu folgenden Themen befragt:

- Krankenhausaufenthalte (v.a. kardial bedingt) der 6 Monate seit Stentimplantation
- Notwendigkeit der Durchführung einer weiteren Koronarangiographie
- Notwendigkeit einer neuerlichen PCI (Stentredilatation oder neuer Stent an der gleichen Stelle)
- Notwendigkeit einer Bypass-OP wegen eines Stentverschlusses
- Beschwerden in der letzten Zeit bei Belastung oder in Ruhe (Stechen, Druckgefühl in der Brust, Atemnot)
- Ob sie in der letzten Zeit ähnliche Beschwerden hatten wie vor 6 Monaten vor dem Krankenhausaufenthalt
- Blutungsereignisse: Gastro-intestinal , Cerebral, sonstige
- Todesfälle: Wenn ja, woran (kardial oder nicht-kardial), plötzlich oder progrediente Verschlechterung

Zur besseren Veranschaulichung wurden die Befragungsergebnisse im Folgenden graphisch aufgearbeitet

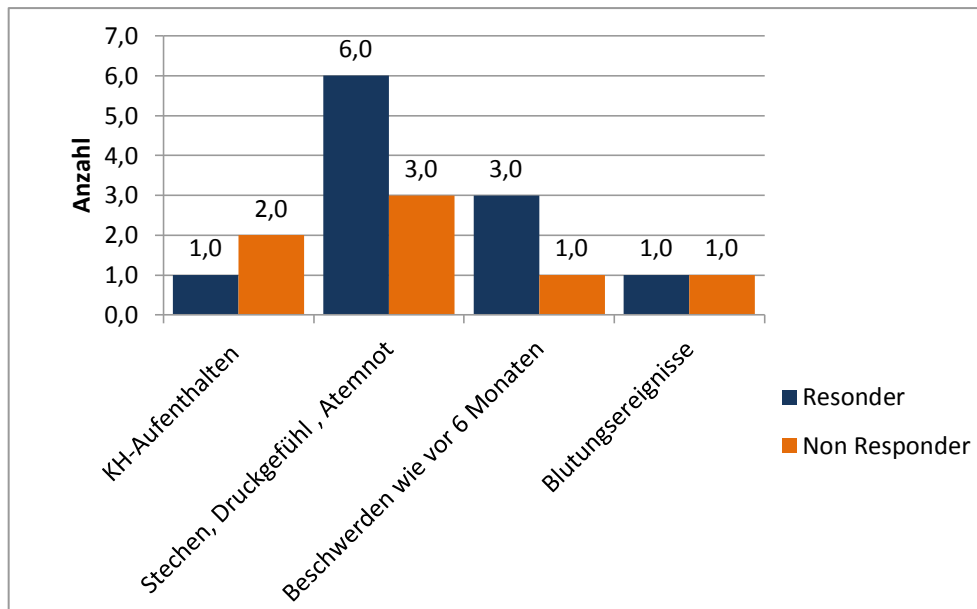


Abbildung 21: Follow-Up Ergebnisse 1

In Abbildung 21 ist zu sehen, dass bei drei Patienten (zwei aus der Non-Responder und einer aus der Responder Gruppe) ein Krankenhausaufenthalt innerhalb des Follow Up Zeitraumes notwendig war. Der Aufenthaltsgrund war einerseits Dyspnoe aufgrund eines Lungenödems (bei den Non-Respondern) und auf der anderen Seite eine Gastrointestinalblutung bei dem Patienten aus der Responder-Gruppe. Am häufigsten gaben die Patienten Beschwerden an, auf die Frage nach Atemnot, Stechen oder Druckgefühl in der Brust. Wobei die meisten Probanden Probleme mit der Atmung, bei leichter bis mittlerer Belastung und damit einhergehend ein leichtes Druckgefühl im Brustbereich beschrieben. Lediglich vier der 14 Patienten sagten, dass sie ähnliche Beschwerden wie vor dem Krankenhausaufenthalt mit Stentimplantation aufweisen. Von diesen gab ein Responder-Patient an, dass die Beschwerden auch unmittelbar nach Stentimplantation gleich geblieben wären. Zu größeren Blutungskomplikationen kam es bei je einem Responder und einem Non-Responder, der Patient aus der Non-Responder Gruppe wies eine starke Hämatombildung auf, die eine Anämie verursachte und der Responder musste auf Grund einer länger anhaltenden Gastrointestinalblutung stationär behandelt werden. Bei keinem der beiden Patienten kam es zu einer akut lebensbedrohlichen Blutung.

Patienten- nummer	Durchführung einer neuerlichen Koronarangio	Stentredilatation oder neuer Stent an der gleichen Stelle	Bypass-OP wegen Stent- Verschluss
001-LM	Nein	Nein	Nein
002-HY	Nein	Nein	Nein
003-SM	Nein	Nein	Nein
004-WW	Nein	Nein	Nein
005-JT	Nein	Nein	Nein
006-AI	Nein	Nein	Nein
007-RA	Nein	Nein	Nein
008-PF	Nein	Nein	Nein
009-DM	Nein	Nein	Nein
010-BE	Nein	Nein	Nein
011-DA	Nein	Nein	Nein
012-GA	Nein	Nein	Nein
013-DA	Nein	Nein	Nein
014-SG	Nein	Nein	Nein

Tabelle 11: Follow Up-Ergebnis 2

Tabelle 11 soll veranschaulichen, dass bei keinen der 14 Patienten eine neuerliche Koronarangio notwendig war. Somit erfolgte bei keinem Patienten eine Stentredilatation oder die Notwendigkeit einen Stent an der gleichen Stelle wie vor 6 Monaten zu implantieren. Auch musste sich keiner der Patienten auf Grund des Stentverschlusses einer Bypass-Operation unterziehen.

Patientennummer	Todesfälle	Sonstige Ereignisse	Familiäre Vorgeschichte
001-LM	Nein	Lungenödem	Ja
002-HY	Nein	Nein	Nein
003-SM	Nein	Nein	Nein
004-WW	Nein	Nein	Ja
005-JT	Nein	Nein	Ja
006-AI	Nein	Nein	Nein
007-RA	Nein	Blutdruckentgleisungen	Nein
008-PF	Nein	Nein	Ja
009-DM	Nein	niedriger Blutdruck, Schwindel	Ja
010-BE	Nein	Nein	Nein
011-DA	Nein	Nein	Nein
012-GA		Nein	Nein
013-DA	Nein	Nein	Nein
014-SG	Nein	Lungenödem	Nein

Tabelle 12: Follow-Up Ergebnis 3

Wie in der oben angeführten Tabelle zu sehen verstarb kein Patient im Zeitraum des Follow Up's. Weiters erfolgte eine Befragung zu sonstigen Auffälligkeiten und zur familiären Vorgeschichte, hier bei wurde nach kardialen Ereignissen (Stentimplantationen, Bypass-OP. Myocardinfarkte, plötzliche Herztode) bei Verwandten ersten Grades gefragt. Aus der Tabelle geht hervor dass vier Patienten sonstige Ereignisse aufwiesen (je zwei Non-Responder und zwei Responder). Eine familiäre Vorbelastung fand sich laut Angaben bei fünf Probanden, davon drei Responder und zwei Non Responder.

4.6 Zusammenfassung der Ergebnisse

Auf Basis der LTA und unter Vergleich mit PFA-100, Verify Now, VASP, Flexstation und Multiplate konnten in der Studie 3 (21,4%) der Patienten eine insuffiziente Hemmung des P2Y₁₂ Thrombozytenrezeptors durch Clopidogrel nachgewiesen werden. 11 (78,6%) wiesen eine suffiziente Hemmung auf. Wiederum mittels LTA, konnte dann nachgewiesen werden dass durch Umstellung auf Prasugrel bei den Non-Respondern eine effektive Blockade des Thrombozytenrezeptors ermöglicht wurde. Im Follow Up konnte anschließend ermittelt werden dass bei keinem der 14 Patienten eine Stentthrombose zu detektierten war und auch kein Patient eine lebensbedrohliche Komplikation verzeichnete.

5 Diskussion

5.1 Allgemein

Die Kernfragestellung der Diplomarbeit bestand darin, ob bei Patienten nach PCI mit Stentimplantation der P2Y₁₂ Thrombozytenrezeptor durch Clopidogrel blockiert wird. Bislang wurde davon ausgegangen, dass Clopidogrel seine Wirkung bei allen Patienten unabhängig von ihren individuellen Unterschieden erfüllt. Daten zeigen aber, dass es bei 14-18% der Patienten trotz der Einnahme von Clopidogrel in Kombination mit Aspirin zu einer Thrombose des Stents kommt [47]. Es liegt also nahe, dass bei jener Population die Blockade des Rezeptors nur ungenügend oder überhaupt nicht erfolgt. Daher war das Ziel der Diplomarbeit einen systematischen Nachweis der Clopidogrelfunktion, bei Patienten nach elektiver PCI mit Stentimplantation, unter der Verwendung verschiedener labortechnischer Methoden zur Thrombozytenfunktionsmessung zu erbringen, sowie die Bestimmung des Outcomes dieser Patienten durch ein 6 Monats Follow-Up.

Im Zuge der Diskussion sollen auf Grund der geringen Patientenzahlen, die Ergebnisse nochmals in Bezug auf die Literatur besprochen werden und weiters wird auf mögliche Zukunftsperspektiven eingegangen.

5.2 Vergleich der Thrombozytenfunktionstests

Auf Basis der Lichttransmissionsaggregometrie, welche noch immer als Goldstandard dient [40], erfolgte die Messung der Thrombozytenfunktion bei den 14 eingeschlossenen Patienten. Mittels LTA unter Verwendung von ADP als Agonist, konnte gezeigt werden, dass die Non-Responder eine deutlich höhere Aggregation der Thrombozyten aufwiesen als die Responder. Vergleichend dazu wurden fünf andere Methoden ausgewertet und auch hier war zu sehen, dass keine suffiziente Hemmung der Thrombozyten zu verzeichnen war. Die verwendeten Verfahren zur Thrombozytenfunktionsbestimmung wurden bereits in diversen Studien getestet und zeigten, dass die LTA als Standardmethode die besten Ergebnisse vorweist, die Aussagen der anderen Verfahren aber mit der LTA und miteinander übereinstimmen [40-46].

Im Rahmen der Tests fand auch eine Messung mit der Flexstation einer automatisch optischen Hochdurchsatz Aggregometrie statt.

In unserer Studie waren die LTA Ergebnisse auch mit denen der Flexstation vergleichbar. Die Flexstation läuft automatisch und kann in kurzer Zeit eine große Probenmenge bewältigen, darum kann sie für den Klinikalltag geeignet sein.

5.3 Vergleich möglicher Resistenzmuster mit der Literatur

Mittels Funktionstests wurden von 14 Patient 3 (21,4%) als Non-Responder ermittelt. Unter den drei Non-Respondern machten die Frauen mit 2 (66,7%) gegenüber einem Mann (33,3%) den größeren Anteil aus, während in der Responder Gruppe die Männer mit 9 (81,8) zu 2 Frauen (18,2%) überwogen. Es zeigte sich in unserer kleinen Population, dass die Non-Responder zu einem höheren Anteil Diabetiker waren und im Verhältnis eher eine Stentimplantation in der Vorgeschichte aufwiesen als die Responder. Diese Beobachtung kann auch durch neuere Studien bestätigt werden welche aussagen, dass Diabetiker einen höheren Fibrinogenlevel aufweisen und dies ein Grund für die gesteigerte Thrombozytenaggregation und das damit einhergehende schlechtere Ansprechen auf Clopidogrel sein könnte [48]. Alle drei Non-Responder nahmen PPI's ein, bei denen aus Literaturquellen hervor geht, dass sie einen Effekt auf die Clopidogrelwirkung haben können [39]. Die drei Non-Responder wurden im Laufe des stationären Aufenthaltes auf den potenteren P2Y₁₂ Antagonisten Prasugrel umgestellt. Anschließende Messungen zeigten deutlich, dass die Patienten unter Prasugrel eine TAH aufwiesen. Um eine Aussage über die Hemmung der Thrombozyten nach Umstellung der Medikation treffen zu können, wurde hier ebenfalls die LTA Werte verwendet. Hier zeigte die LTA und auch die anderen Messmethoden (außer Multiplate), dass nach Umstellung eine suffiziente Blockade des Rezeptors vorliegt. Prasugrel führt zu einer schnelleren und potenteren Hemmung, da es laut verschiedenster Studien schneller an den Rezeptor bindet und eine höhere Konzentration an aktiven Metaboliten zur Verfügung stellt [31]. Dies konnte in der Studie bestätigt werden, da alle drei Non-Responder nach Medikationsumstellung, eine Hemmung der Thrombozytenaggregation aufwiesen.

Einige Artikel zeigen jedoch auf, dass eine Prasugreltherapie mit einem erhöhten Blutungsrisiko einhergeht und dass es für Patienten mit einem Insult oder einer transitorisch ischämische Attacke (TIA) in der Vorgeschichte, sowie für alle Patienten über 75 Jahre und einem Körpergewicht unter 60kg, nicht geeignet ist [32].

5.4 Vergleich der Follow-Up Ergebnisse mit der Literatur

Mit dem Hintergrund, dass Prasugrel nicht für alle Patienten geeignet ist und um das Outcome aller Patienten mit der via Thrombozytenfunktionsmessung verifizierten Therapie zu bestimmen wurden die Patienten nach 6 Monaten über ihren Gesundheitszustand befragt. Es sollte gezielt ermittelt werden ob sich ein Verschluss des Stents ereignete bzw. ob eine Redilatation oder ob eine Bypass-OP aufgrund des Stentverschlusses nötig wurde. Bei keinem der Patienten weder Responder, noch den auf Prasugrel umgestellten Non-Respondern konnte ein solches Ereignis im Follow Up ermittelt werden. Entgegen der Literatur die darauf hinweist, dass die Lokalisation des Verschlusses und der Stenttyp eine Rolle bei der Entstehung einer Stentthrombose hat, zeigte sich bei der Diplomarbeitstudie kein Trend bei den Patienten [17]. Es kam wie beschrieben bei keinem der Patienten zu einem akuten Thrombosegeschehen und die Verteilung unter den Stenttypen ließ keine Tendenz erkennen, einzig bei der Lokalisation des Verschlusses war dieser in der Non-Responder Gruppe häufiger in der Arteria circumflexa angesiedelt, aber unter Berücksichtigung des Follow Up's zeigte sich kein Unterschied bezogen auf das Outcome. Bei sechs Patienten aus der Responder und bei drei aus der Non-Responder Gruppe kam es innerhalb des Follow Up's zu erneuten Beschwerden wie Atemnot, Druckgefühl bzw. Stechen in der Brust. Studien über Prasugrel belegen, dass sich diese Ereignisse unter Prasugrel gegenüber Clopidogrel weniger häufig auftreten [51], dies konnte die DA-Studie nicht bestätigen. Weiteres Augenmerk wurde im Follow Up auf eventuelle schwere Blutungsereignisse gelegt. Zu diesen zählten Gastrointestinalblutungen, zerebrale Blutungen oder sonstige große Blutungsereignisse (die eine Behandlung nötig machen).

Besonders wurde darauf geachtet ob es unter der Prasugreltherapie zu einem Anstieg der Blutungsrate kommt, da in Artikeln über Prasugrel zwar dessen bessere Wirkungsweise immer hervorgehoben wird, aber damit scheinbar auch immer ein erhöhtes Blutungsrisiko einher geht [51]. Bei den Befragungen konnte ermittelt werden, dass bei einem Patient aus der Responder Gruppe eine Gastrointestinalblutung auftrat, die einen stationären Aufenthalt nach sich zog. Bei der Non-Responder Gruppe kam es ebenfalls bei einem Patienten zu einer Blutungskomplikation, dieser Patient bekam massive Hämatome die eine Anämie auslösten. Mit diesem Hintergrund kann nicht mit Sicherheit bestätigt werden, dass die Therapie mit Prasugrel wirklich ein höheres Blutungsrisiko beinhaltet. Im Zuge der Telefonate erfolgt ebenfalls eine Befragung zur familiären Vorbelastung der Patienten. In der Befragung wurde hier darauf eingegangen ob Verwandte ersten Grades an Herzproblemen litten (Todesfälle durch Infarkt oder plötzlicher Herztod, Koronarinterventionen, Bypass-Operationen). Hier ergab sich bei drei Responder und bei zwei der Non-Responder eine familiäre Vorbelastung.

5.5 Ausblick

Die im Zuge des Follow Up's gestellte Frage nach der familiären Belastung spielt vor allem in Hinblick auf eine möglich genetische Variation des CYP-Enzyms eine Rolle spielt. Diese Variation ist wichtig da Clopidogrel ein Prodrug ist und erst durch die CYP-Enzyme metabolisiert und so aktiviert wird. In jüngsten Studien konnte gezeigt werden, dass eine Variation des CYP2C19 Enzyms dazu führt, dass das Enzym eine geringere Wirkung aufweist und dies kann wiederum die Metabolisierung und somit die Wirksamkeit von Clopidogrel bei diesen Patienten beeinflussen [52]. So könnte es sein, dass dieser Genotyp vererbt wird und dies könnte ein Grund sein, warum manche Personen einen schlechteren Response auf Clopidogrel aufweisen. Es wäre im Zuge der Diplomarbeit auch möglich gewesen eine genetische Testung des CYP Rezeptors durchzuführen, natürlich mit Einverständnis der Patienten und mit Erlaubnis der Ethikkommission. Jedoch wird diese Testung außerhalb durchgeführt und auf Grund der geringen Patientenzahlen konnte bis zum Abschluss der Diplomarbeit keine erfolgen.

Die Testung des Genotypes wäre jedoch eine Möglichkeit der Therapieanpassung, vor allem profitieren Patienten die homozygote Träger sind von dieser Therapie [53]. Neuste Ergebnisse zeigen nämlich, dass bei Patienten mit einer Variation des CYP2C19 Enzyms eine erhöhte Clopidogreldosis die Wahrscheinlichkeit für ein kardiovaskuläres Ereignis sinken lässt. Durch die Dosisanpassung kann es sogar bei einem Non Responder zu einer suffizienten Hemmung kommen [53]. Weiterführend wäre es also interessant diese Variation auszutesten vor allem bei Patienten mit Non-Responder Status, da es auch von Interesse wäre ob sich diese Dosisanpassung auf Prasugrel umlegen lässt, da Prasugrel normalerweise mehr vom aktiven Metaboliten zur Verfügung stellt.

Als weitere Überlegung für die Zukunft, wäre es auch Thrombozytenfunktionstestungen durchzuführen bei Patienten mit Ticagrelor als TAH. Ticagrelor wird zurzeit vor allem in der Versorgung von akut Patienten in Kombination mit Aspirin angewendet. Ticagrelor gehört zu einer neuen chemischen Gruppe den Zyklopentyltriazolopyrimidinen, es führt zu einer raschen und potenten Blockade des P2Y₁₂ Rezeptors und neuere Artikel zeigen kein höheres Blutungsrisiko [54,55]. Könnte man nun mittels Thrombozytenfunktionstest einen besseren Response nachweisen, als bei Clopidogrel, wäre Ticagrelor eine gute Alternative zu Clopidogrel. Mittels Thrombozytenfunktionstests könnte eventuell eine Verwendung von Ticagrelor als Standardmedikament auch bei elektiven Patienten durchgesetzt werden.

5.6 Resümee

Zusammenfassend ist zu sagen, dass es auf Grund der, in der DA-Studie ermittelten Zahlen (21,4%) gerechtfertigt ist eine Testung der Thrombozytenfunktion nach Clopidogrel-Einnahme durchzuführen. Es konnte auch gezeigt werden, dass die Non-Responder durch ihre Umstellung auf Prasugrel kein schlechteres Outcome haben und somit von der Therapie profitieren. Denn die Literatur zeigt sehr deutlich dass jene Patienten die eine Clopidogrel Resistenz aufweisen und mit dieser Therapie entlassen werden ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse aufweisen [37]. Die Limitation der Studie besteht natürlich in ihrer geringen Patientenzahl, daher wäre eine Weiterführung und Erweiterung von Nutzen.

Sinnvoll wäre es Ticagrelor als Wirkstoff mit aufzunehmen und auch die Weiterführung der genetischen Testung könnte einen großen Erkenntnisgewinn bringen.

6 Literaturverzeichnis

1. Siegenthaler, W. (Ed.). (2006). *Klinische Pathophysiologie* (8. vollständig neu bearbeitete Auflage) Thieme, 644-648.
2. Dietel, M., Suttorp, N., & Zeitz, et al (2005). *Harrisons innere Medizin* (16.Auflage ed.) ABW Wissenschaftsverlag, 1537-1567.
3. http://www.statistik.at/web_de/statistiken/gesundheit/todesursachen/todesursachen_im_ueberblick/index.html
4. Silbernagel, S., & Lang, F. (2005). *Taschenatlas der Pathophysiologie* (2. korrigierte Auflage ed.). Stuttgart: Thieme, 218-239.
5. Davi, G., & Patrono, C. (2007). Platelet activation and atherothrombosis. *NEJM*, 357, 2482-2494.
6. Faxon, D. P., & Nesto, R. W. (2006). Antiplatelet therapy in populations at high risk of atherothrombosis. *NATL MED ASSOC*, 98, 711-721.
7. Böcker, W., Denk, H., Heitz, PH. U., et al (Ed.). (2008). *Pathologie* (4. vollständig überarbeitete Auflage ed.). München; Jena: Elsevier GmbH, Urban & Fischer, 472-473.
8. Wright, R. S., Anderson, J. L., Adams, C. D., et al. (2011). 2011 ACCF/AHA focused update incorporated into the ACC/AHA 2007 guidelines for the management of patients with unstable Angina/Non-ST-elevation myocardial infarction: A report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association task force on practice guidelines developed in collaboration with the American Academy of Family Physicians, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and the Society of Thoracic Surgeons. *J Am Coll Cardiol*, 57, e215-367.
9. Kim, M. C.; Kini, A. & Sharma, S. K. (2002). Refractory angina pectoris: Mechanism and therapeutic options *J Am Coll Cardiol*, 39, 923-934.

10. Borden, W. B., Redberg, R. F., Mushlin, A. I., et al. (2011). Patterns and intensity of medical therapy in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *JAMA*, 305, 1882-1889.
11. Tscheliessnigg, K.H.; Uranüs, S.; Pierer, G. et al. (2005). Lehrbuch der Allgemeinen und speziellen Chirurgie, (3.Auflage), Wien-München-Bern: Verlag Wilhelm Maudrich, 190-191
12. Wiviott, S. D., Braunwald, E., McCabe, C. H., et al. (2008). Intensive oral antiplatelet therapy for reduction of ischaemic events including stent thrombosis in patients with acute coronary syndromes treated with percutaneous coronary intervention and stenting in the TRITON-TIMI 38 trial: A subanalysis of a randomised trial. *Lancet*, 371, 1353-1363.
13. White, H. D. (2011). Oral antiplatelet therapy for atherothrombotic disease: Current evidence and new directions. *Am Heart J*, 161, 450-461.
14. Fox, K. A., Mehta, S. R., Peters, R., et al. (2004). Benefits and risks of the combination of clopidogrel and aspirin in patients undergoing surgical revascularization for non-ST-elevation acute coronary syndrome: The clopidogrel in unstable angina to prevent recurrent ischemic events (CURE) trial. *Circulation*, 110, 1202-1208.
15. Deetjen, P.; Speckmann, E.J.; Hescheler, J.; (Ed.). (2005). *Physiologie* (4. vollständig überarbeitete Auflage ed.) Elsevier GmbH, Urban & Fischer, 365-366.
16. Meier, B. (2010). Blutplättchenhemmer bei koronarer Herzkrankheit. *Continuous Medical Education*, 60-63.
17. Uren, N. G., Schwarzacher, S. P., Metz, J. A., et al. (2002). Predictors and outcomes of stent thrombosis: An intravascular ultrasound registry. *Eur Heart J*, 23, 124-132.
18. Cutlip, D. E., Windecker, S., Mehran, R., et al. (2007). Clinical end points in coronary stent trials: A case for standardized definitions. *Circulation*, 115, 2344-2351.

19. Mitra, A. K., & Agrawal, D. K. (2006). In stent restenosis: Bane of the stent era. *J clin pathol*, 59, 232-23.
20. Curcio, A., Torella, D., & Indolfi, C. (2011). Mechanisms of smooth muscle cell proliferation and endothelial regeneration after vascular injury and stenting: Approach to therapy. *Circulation Journal: Official Journal of the Japanese Circulation Society*, 75, 1287-1296.
21. Lemesle, G., Delhaye, C., Bonello, L., et al. (2008). Stent thrombosis in 2008: Definition, predictors, prognosis and treatment. *Archives of Cardiovascular Diseases*, 101, 769-777.
22. Hochholzer, W., Trenk, D., Bestehorn, H. P., et al. (2006). Impact of the degree of peri-interventional platelet inhibition after loading with clopidogrel on early clinical outcome of elective coronary stent placement. *J Am Coll Cardiol*, 48, 1742-1750.
23. Day, J. R., Malik, I. S., Weerasinghe, A., et al. (2004). Distinct yet complementary mechanisms of heparin and glycoprotein IIb/IIIa inhibitors on platelet activation and aggregation: Implications for restenosis during percutaneous coronary intervention. *Heart (British Cardiac Society)*, 90, 794-799.
24. Sabatine, M. S., Hamdalla, H. N., Mehta, S. R., et al. (2008). Efficacy and safety of clopidogrel pretreatment before percutaneous coronary intervention with and without glycoprotein IIb/IIIa inhibitor use. *Am Heart J*, 155, 910-917.
25. Beeinflussung des Gerinnungssystems. In E. Burgis (Ed.), *Intensivkurs allgemeine und spezielle Pharmakologie* (4. Auflage ed). Urban&Fischer, 230-243.
26. Muller, I., Seyfarth, M., Rudiger, S., et al. (2001). Effect of a high loading dose of clopidogrel on platelet function in patients undergoing coronary stent placement. *Heart (British Cardiac Society)*, 85, 92-93.
27. Ellahham, S. (2008). Role of antiplatelet agents in the primary and secondary prevention of atherothrombotic events in high risk-patients. *Southern Medical Journal*, 101, 273-283.

28. Lev, E. I., Patel, R. T., Maresh, K. J., et al. (2006). Aspirin and clopidogrel drug response in patients undergoing percutaneous coronary intervention: The role of dual drug resistance. *J Am Coll Cardiol*, 47, 27-33.
29. Yusuf, S., Zhao, F., Mehta, S. R., et al. (2001). Effects of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation. *NEJM*, 345, 494-502.
30. Gurbel, P. A., Bliden, K. P., Hiatt, B. L., et al (2003). Clopidogrel for coronary stenting: Response variability, drug resistance, and the effect of pretreatment platelet reactivity. *Circulation*, 107, 2908-2913.
31. Dangas, G. D., Caixeta, A., Mehran, R., et al. (2011). Frequency and predictors of stent thrombosis after percutaneous coronary intervention in acute myocardial infarction. *Circulation*, 123, 1745-1756.
32. Wiviott, S. D., Braunwald, E., McCabe, C. H., et al. (2007). Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *NEJM* 357, 2001-2015.
33. Antman, E. M., Wiviott, S. D., Murphy, S. A., et al. (2008). Early and late benefits of prasugrel in patients with acute coronary syndromes undergoing percutaneous coronary intervention: A TRITON-TIMI 38 (TRial to assess improvement in therapeutic outcomes by optimizing platelet Inhibition with prasugrel-thrombolysis in myocardial infarction) analysis. *J Am Coll Cardiol*, 51, 2028-2033.
34. Kushner, F. G., Hand, M., Smith, S. C.Jr., et al. (2009). 2009 focused updates: ACC/AHA guidelines for the management of patients with ST-elevation myocardial infarction (updating the 2004 guideline and 2007 focused update) and ACC/AHA/SCAI guidelines on percutaneous coronary intervention (updating the 2005 guideline and 2007 focused update): A report of the american college of cardiology Foundation/American heart association task force on practice guidelines. *Circulation*, 120, 2271-2306
35. Gasparyan, A. Y. (2010). Aspirin and clopidogrel resistance: Methodological challenges and opportunities. *Vascular Health and Risk Management*, 6, 109-112.

36. Migliorini, A., Valenti, R., Marcucci, R., et al. (2009). High residual platelet reactivity after clopidogrel loading and long-term clinical outcome after drug-eluting stenting for unprotected left main coronary disease. *Circulation*, 120, 2214-2221.
37. Parodi, G., Marcucci, R., Valenti, R., et al. (2011). High residual platelet reactivity after clopidogrel loading and long-term cardiovascular events among patients with acute coronary syndromes undergoing PCI. *JAMA*, 306, 1215-1223.
38. Wang, T. H., Bhatt, D. L., & Topol, E. J. (2006). Aspirin and clopidogrel resistance: An emerging clinical entity. *Eur Heart J*, 27, 647-654.
39. Ho, P. M., Maddox, T. M., Wang, L., et al. (2009). Risk of adverse outcomes associated with concomitant use of clopidogrel and proton pump inhibitors following acute coronary syndrome. *JAMA*, 301, 937-944.
40. Linneman, B., Schwonber, J., Rechner, A. R., et al. (2010). Assessment of clopidogrel non-response by the PFA-100 system using the new test cartridge INNOVANCE PFA P2Y. *Ann Hematol*, 89, 597-605.
41. Herkommer, M., & Dr. Geisler, T. *Verfahren zur Messung der Thrombozytenfunktion: pro und contra*, Universität Tübingen
42. Breet, N. J., van Werkum, J. W., Bouman, H. J., et al. (2010). Comparison of platelet function tests in predicting clinical outcome in patients undergoing coronary stent implantation. *JAMA*, 303, 754-762.
43. Bouman, H. J., Parlak, E., van Werkum, J. W., et al. (2009). Which platelet function test is suitable to monitor clopidogrel responsiveness? A pharmacokinetic analysis on the active metabolite of clopidogrel. *J thromb and haemostas*, 482-488.
44. Barragan, P., Bouvier, J. L., Roquebert, P. O., et al. (2003). Resistance to thienopyridines: Clinical detection of coronary stent thrombosis by monitoring of vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation. *Catheterization and Cardiovascular Interventions: Official Journal of the Society for Cardiac Angiography & Interventions*, 59, 295-302.

45. Breddin, H. K., & Harder, S. (2003). Wertigkeit von Plättchenfunktionstests. *VASA*, 32:123-129.
46. Nylander, S., Johansson, K., Van Giezen, J. J. J., et al. (2006). Evaluation of platelet function, a method comparison. *Platelets*, 49-55.
47. Sharp, A. S., Latib, A., Ielasi, A., et al. (2009). Long-term follow-up on a large cohort of "full-metal jacket" percutaneous coronary intervention procedures. *Circulation: Cardiovascular Interventions*, 2, 416-422
48. WHO (Hrsg.). Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation.. In: WHO Technical Report Series 2000; 894:i-xii: 1-253
49. El Ghannudi, S., Ohlmann, P., Jesel, L., et al. (2011). Impaired inhibition of P2Y(12) by clopidogrel is a major determinant of cardiac death in diabetes mellitus patients treated by percutaneous coronary intervention. *Atherosclerosis*, 217, 465-472.
50. Herold, G., & et al. (2010). *Innere medizin* (6. ergänzte ed., pp. 907-917). Köln: Arzt + Information.
51. Murphy, S. A., Antman, E. M., Wiviott, S. D., Weerakkody, G., Morocutti, G., Huber, K., et al. (2008). Reduction in recurrent cardiovascular events with prasugrel compared with clopidogrel in patients with acute coronary syndromes from the TRITON-TIMI 38 trial. *Eur Heart J*, 29, 2473-2479.
52. Holmes, M. V., Perel, P., Shah, T., et al (2011). CYP2C19 genotype, clopidogrel metabolism, platelet function, and cardiovascular events: A systematic review and meta-analysis. *JAMA*, 306, 2704-2714.
53. Mega JL, Hochholzer W, Frelinger AL 3rd, et al (2012). Dosing clopidogrel based on CYP2C19 genotype and the effect on platelet reactivity in patients with stable cardiovascular disease. *Indian Heart Journal*, 64, 218-219.
54. Cayla, G., Montalescot, G., & Collet, J. P. (2010). Ticagrelor to prevent restenosis: New drug for an old hypothesis? *Arterioscler thromb vasc biol*, 30, 2320-2322

55. Pant, S., Neupane, P., Ramesh, K. C., et al (2011). Post percutaneous coronary intervention antiplatelet therapy: Current perceptions, prospects and perplexity. *Cardiology Journal*, 18, 712-717.