

**Aus der Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik Tübingen  
Abteilung Innere Medizin III  
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. M. Gawaz**

**Der PREDICT („Residual Platelet Reactivity After  
Deployment of Intracoronary Stent“)-Score:  
Ein Scoring-System zur Abschätzung der residuellen  
Plättchenaktivität nach koronarer Stentimplantation**

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

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

**vorgelegt von**

**Dorothee Alexandra Graß**

**aus**

**Nürtingen**

**2010**

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. M. Gawaz
2. Berichterstatter: Professor Dr. M. Schwab

Herrn Dr. med. Horst Krause

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>GRUNDLAGEN</b>	<b>3</b>
<b>2.1</b>	<b>Der Thrombozyt</b>	<b>3</b>
2.1.1	Die Morphologie des Thrombozyten	3
<b>2.2</b>	<b>Die Hämostase</b>	<b>6</b>
2.2.1	Die primäre Hämostase	6
2.2.2	Die sekundäre Hämostase	8
<b>2.3</b>	<b>Die thrombozytären Rezeptoren</b>	<b>9</b>
2.3.1	Die thrombozytären P <sub>2</sub> -Rezeptoren	10
<b>2.4</b>	<b>Die Rolle des Thrombozyten in der Pathophysiologie der koronaren Herzkrankheit</b>	<b>12</b>
2.4.1	Atherogenese	12
2.4.2	Akutes Koronarsyndrom	13
2.4.3	Reperfusion und interventionelle Therapie	14
<b>2.5</b>	<b>Thienopyridine</b>	<b>15</b>
2.5.1	Pharmakokinetik von Clopidogrel	17
2.5.2	Anwendung und Dosierung von Clopidogrel	18
<b>2.6</b>	<b>Clopidogrel-Resistenz</b>	<b>19</b>
2.6.1	Messmethoden zur Bestimmung der pharmakologischen Wirksamkeit von Clopidogrel	20
2.6.2	Prävalenz der Clopidogrel-Resistenz	21
2.6.3	Klinische Bedeutung der Clopidogrel-Resistenz	22
2.6.4	Mögliche Ursachen der Clopidogrel-Resistenz	23
<b>3</b>	<b>ZIELSETZUNG</b>	<b>26</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAL, METHODEN UND PATIENTEN</b>	<b>27</b>
<b>4.1</b>	<b>Studienpopulation und Studiendesign</b>	<b>27</b>
<b>4.2</b>	<b>Thrombozytenaggregationshemmung</b>	<b>29</b>
<b>4.3</b>	<b>Gewinnung und Verarbeitung der Blutproben</b>	<b>29</b>
<b>4.4</b>	<b>Thrombozytenaggregometrie</b>	<b>31</b>
4.4.1	Durchführung der Messung	32
4.4.2	Auswertung der Aggregationskurven	33
<b>4.5</b>	<b>Nachverfolgung der Patienten</b>	<b>34</b>
<b>4.6</b>	<b>Statistische Auswertung und Entwicklung des Risikoscores</b>	<b>35</b>

<b>5</b>	<b>ERGEBNISSE.....</b>	<b>39</b>
5.1	Aggregationsverlauf und residuelle Thrombozytenaktivität.....	39
5.2	Demographische und klinische Charakteristika der Studienpopulation.....	40
5.3	Univariate Analyse der demographischen und klinischen Charakteristika ..	43
5.4	Multivariate logistische Regressionsanalyse .....	45
5.5	Anwendung des kumulativen Risikoscores auf das Patientenkollektiv.....	46
5.6	Gewichtung der Score-Variablen .....	47
5.7	Nachverfolgung der Patienten .....	48
<b>6</b>	<b>DISKUSSION.....</b>	<b>51</b>
<b>7</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>64</b>
<b>8</b>	<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>66</b>
<b>9</b>	<b>TABELLENVERZEICHNIS .....</b>	<b>67</b>
<b>10</b>	<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>68</b>
<b>11</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>69</b>
<b>12</b>	<b>ANHANG .....</b>	<b>80</b>
12.1	Patienteninformation .....	80
12.2	Einverständniserklärung .....	83
<b>13</b>	<b>DANKSAGUNG.....</b>	<b>84</b>
<b>14</b>	<b>LEBENS LAUF.....</b>	<b>85</b>

# 1 Einleitung

Kardiovaskuläre Erkrankungen stellen ein gesundheitliches Problem dar, von dem immer mehr Menschen betroffen sind. Der moderne Lebensstil mit vermehrten kardiovaskulären Risikofaktoren wie Nikotinkonsum und arterieller Hypertonie, aber auch die steigende Lebenserwartung der Bevölkerung begünstigen diese Entwicklung. Gerade die Prävalenz der Koronaren Herzkrankheit (KHK) ist beträchtlich (Lebenszeitprävalenz Männer: 30 %; Frauen: 15 %). Mit der perkutanen Koronarangioplastie (PTCA) und der koronaren Stentimplantation stehen der Medizin jedoch gute Techniken zur Verfügung, um im Akutfall eine schnelle Revaskularisation thrombosierter Gefäße zu ermöglichen oder eine Stabile Angina pectoris (SAP) zu behandeln (34).

Verschiedene Studien konnten belegen, dass nach einer koronaren Stentimplantation die residuelle Plättchenaktivität (RPA) für die Prognose der Patienten eine entscheidende Rolle spielt (37, 77, 99).

Eine duale antithrombozytäre Therapie mit dem Adenosindiphosphat-Antagonisten Clopidogrel und mit Acetylsalicylsäure (ASS) zeigte sich bezüglich der kardiovaskulären Risikoreduktion einer Thrombozytenaggregationshemmung mit alleiniger ASS-Gabe deutlich überlegen. Heute ist nach koronarer Stentimplantation die Kombinationstherapie mit ASS und Clopidogrel Goldstandard (22, 23, 70). Allerdings wurde in verschiedenen Studien von einer großen interindividuellen Variabilität des Ansprechens auf Clopidogrel berichtet. Bei 5-30 % der behandelten Patienten entfaltet das Medikament keine ausreichende Wirkung (41, 51, 74, 87). Es konnte gezeigt werden, dass diese Patienten eine schlechtere kardiovaskuläre Prognose haben und einem größeren Risiko für eine subakute Stentthrombose unterliegen (26, 45, 49, 53, 102).

Verschiedene klinische und demographische Charakteristika der Patienten wurden mit dem Auftreten einer Clopidogrel-Resistenz in Zusammenhang gebracht. Ziel der hier vorliegenden Studie ist es, den Einfluss verschiedener klini-

scher Variablen auf eine erhöhte thrombozytäre Restaktivität trotz dualer anti-thrombozytärer Therapie zu evaluieren und einen Risikoscore zu bilden, der eine individuelle Einschätzung der Wirksamkeit der plättchenhemmenden Therapie ermöglicht. Klinisch tätigen Ärzten soll damit ein Werkzeug an die Hand gegeben werden, um Risikopatienten, die durch die duale antithrombozytäre Therapie nicht ausreichend geschützt sind, besser zu erkennen und somit Patienten zu identifizieren, die von einer alternativen plättchenhemmenden Therapie prognostisch profitieren können.

## 2 Grundlagen

### 2.1 Der Thrombozyt

#### 2.1.1 Die Morphologie des Thrombozyten

Thrombozyten sind anukleäre Zellen, die im Knochenmark durch Abschnürung aus dem Zytosol von Megakaryozyten gebildet werden. Im peripheren Blut befinden sich physiologisch 150.000-350.000 Thrombozyten/ $\mu\text{l}$ . Das vor allem in Leber und Niere gebildete Thrombopoietin reguliert die Thrombozytenbildung. Thrombozyten sind trotz des fehlenden Zellkerns in geringem Maße zur Proteinsynthese fähig, da sie noch mitochondriale RNA und mRNA aus den Megakaryozyten enthalten (34, 62).

Die Thrombozyten zirkulieren durchschnittlich 7 Tage im peripheren Blut und werden anschließend im retikuloendothelialen System der Milz und der Leber abgebaut.

Der Durchmesser der Blutplättchen beträgt 2-4  $\mu\text{m}$ .

Die Thrombozytenmorphologie ist abhängig vom Aktivierungsgrad. Im inaktiven Zustand liegen die Plättchen in diskoider Form vor und haben eine durchschnittliche Oberfläche von 8  $\mu\text{m}^2$ . Kommt es im Rahmen der Hämostase zur Thrombozytenaktivierung, so erfolgt eine Pseudopodienbildung und die Thrombozyten liegen als Echinosphärozyten vor. Ihre Oberfläche vergrößert sich dann im Durchschnitt auf 13  $\mu\text{m}^2$ .

Die Thrombozytenstruktur ist aus 4 verschiedenen morphologischen Zonen aufgebaut: aus der peripheren Zone, der strukturellen Zone, der Zone der Organellen und aus der Zone der Membransysteme (34, 62).

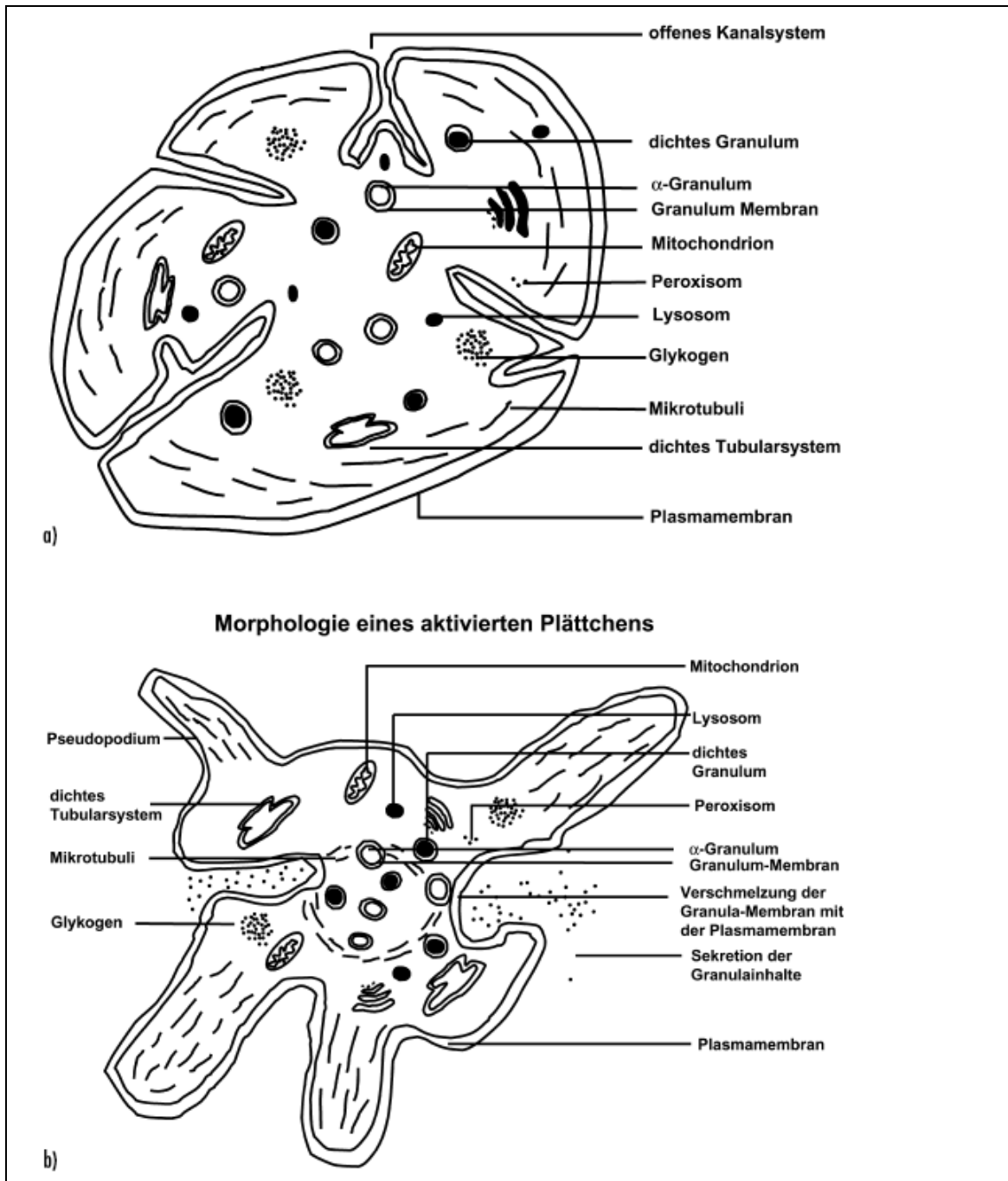
- Periphere Zone: Diese Zone wird durch die Plasmamembran der Thrombozyten gebildet und enthält Mukopolysaccharide, Proteine und unter-



schiedliche Glykoproteine, die als Rezeptoren für die verschiedenen Plättchenagonisten und -inhibitoren fungieren (34, 62).

- Strukturelle Zone: Diese Zone entspricht dem Zytoskelett der Thrombozyten, bestehend aus Aktinfilamenten, Mikrotubuli und einer Reihe weiterer Strukturproteine. Die strukturelle Zone ist verantwortlich für die Beibehaltung der diskoiden Form der Blutplättchen im inaktiven Zustand und für die Formveränderung bei der Aktivierung (34, 62).
- Zone der Membransysteme: Das offene kanalikuläre System besteht aus Invaginationen der Plasmamembran, die weit in das Innere der Thrombozyten hineinreichen. Beim Formwandel der Thrombozyten fungiert das offene kanalikuläre System als Membranreservoir. Das dichte tubuläre System dient vor allem als Calciumspeicher (34, 62).
- Zone der Organellen: Diese Zone besteht aus Mitochondrien, Glykogenspeicher und 3 verschiedenen Arten von Speichergranula: dichte Granula,  $\alpha$ -Granula und Lysosomen. In diesen Granula werden bestimmte Moleküle gespeichert, die während der Thrombozytenadhäsion und -aggregation sezerniert werden. Die dichten Granula enthalten Moleküle, die bei der Plättchenaggregation die Aktivierung und Rekrutierung weiterer Thrombozyten veranlassen. Dies sind hauptsächlich Adenosindiphosphat (ADP), Adenosintriphosphat (ATP), Calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) und Serotonin (34, 62). Die  $\alpha$ -Granula enthalten Adhäsionsproteine (z.B. Fibrinogen, von-Willebrand-Faktor (vWF), Thrombospondin, Fibronectin), Gerinnungsfaktoren (z.B. Faktor V und Faktor XIII) und wichtige Zytokine und Wachstumsfaktoren (z.B. RANTES, PF4, PDGF), die auf verschiedene Funktionen der Thrombozyten einen Einfluss haben, unter anderem auf Adhäsion, Aggregation, Inflammation und Chemotaxis. Die lysosomalen Granula speichern vor allem hydrolytische Enzyme (34, 62).

In Abbildung 1 ist die Ultrastruktur der Blutplättchen schematisch dargestellt.



**Abbildung 1:** Darstellung der Struktur ruhender (a) und aktivierter (b) Thrombozyten

(aus: Kehrel BE. Blutplättchen: Biochemie und Physiologie. Hämostaseologie. 2003; 23: 149-58)

## 2.2 Die Hämostase

Die Hämostase wird in die primäre und in die sekundäre Hämostase unterteilt.

### 2.2.1 Die primäre Hämostase

Im Rahmen einer Gefäßverletzung kommt es zum Freilegen subendothelialer Strukturen und zu einer Thrombozytenadhäsion. Bei den freigelegten subendothelialen Strukturen handelt es sich insbesondere um Kollagen, Fibronectin und Laminin. Eine Adhäsion auch im arteriellen Gefäßbett, in dem hohe Scherkräfte herrschen, kommt vor allem durch den vWF zustande. Der vWF ist ein Glykoprotein, das sowohl von Endothelzellen als auch von Megakaryozyten synthetisiert wird. Die Megakaryozyten speichern den vWF in den  $\alpha$ -Granula der Thrombozyten. Die Endothelzellen sezernieren einen Teil des von ihnen synthetisierten vWF in das Plasma, wo er zirkuliert. Der nicht sezernierte Anteil des vWF wird in der subendothelialen Matrix deponiert und haftet dort an Kollagenfibrillen (34, 62).

Der durch subendotheliales Kollagen immobilisierte vWF interagiert im Rahmen einer Gefäßläsion mit dem thrombozytären Glykoprotein (GP) Ib-V-IX, das als vWF-Rezeptor dient. So kommt ein erster stabiler, hochaffiner Kontakt zwischen Blutplättchen und subendothelialer Matrix im Bereich der Läsion zustande (=Kontaktphase). Diese Verbindung wird über weitere Interaktionen zwischen Blutplättchen und extrazellulärer Matrix des Subendothels stabilisiert. Für die subendothelialen Matrixproteine Kollagen, Fibronectin und Laminin besitzen Thrombozyten spezifische Rezeptoren. Durch Bindung an diese extrazellulären Strukturen erfolgt eine weitere Stabilisierung der Plättchenadhäsion (=Stabilisierungsphase) (34, 39, 62).

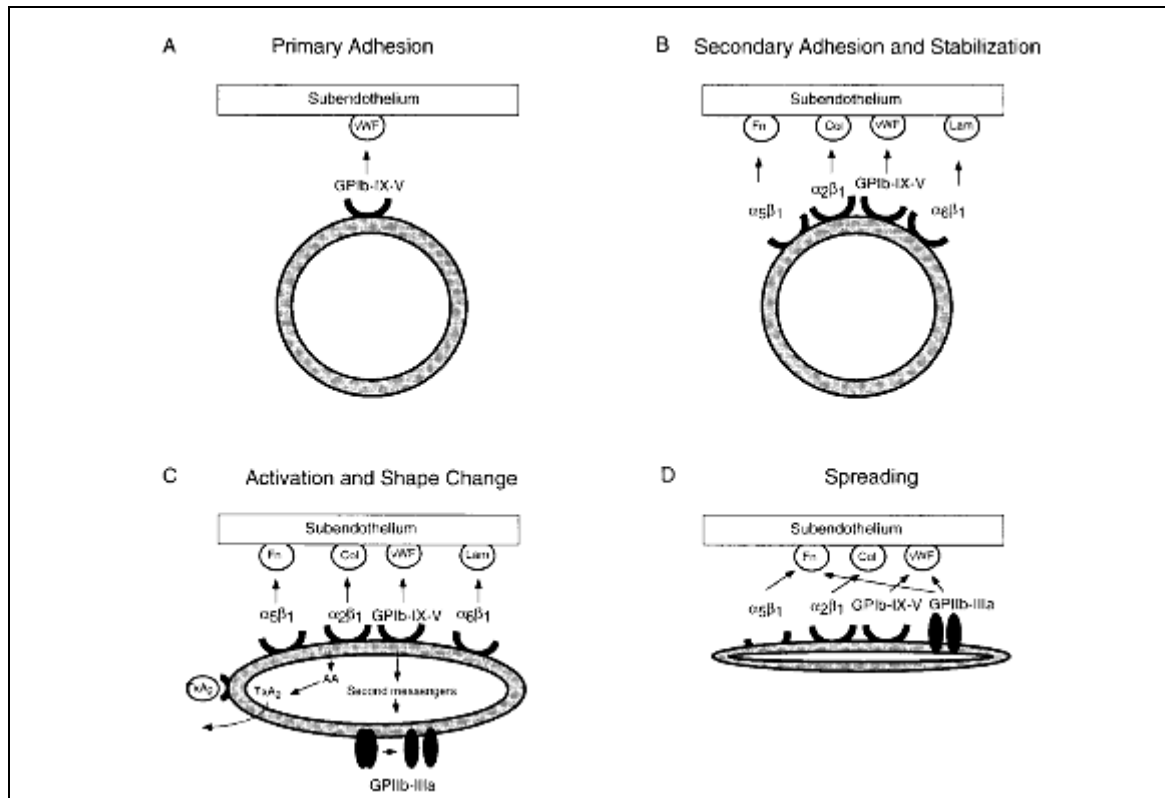
Die Adhäsion der Plättchen geht einher mit der Thrombozytenaktivierung. Die Thrombozytenaktivierung wird über verschiedene mechanische oder biochemische Signale in die Wege geleitet: Sowohl hoher Scherstress, wie er im stenosierten arteriellen Gefäßbett vorkommt als auch die Interaktion der

Thrombozyten mit immobilisiertem vWF oder immobilisiertem Fibrinogen führen zur Aktivierung der Plättchen. Darüber hinaus kommt eine Thrombozytenaktivierung auch durch die Bindung von Agonisten an die spezifischen Plättchenrezeptoren zustande. Die wichtigsten Plättchenagonisten sind Thrombin, Kollagen, ADP, Thromboxan A<sub>2</sub>, Adrenalin, Serotonin, Immunkomplexe, Komplementfaktoren, Vasopressin, gewebsspezifischer Plasminogenaktivator und Streptokinase (25, 62).

Im Rahmen der Aktivierung kommt es durch Beeinflussung biochemischer Mechanismen zur Formveränderung der Thrombozyten, zur Sekretion von Inhaltsstoffen der thrombozytären Granula und zur Aktivierung des GPIIb-IIIa-Komplexes, was die Thrombozytenaggregation ermöglicht. Darüber hinaus führt die Aktivierung zur Stimulierung verschiedener Stoffwechselwege und zur Veränderung der Orientierung von Membranphospholipiden. Damit verbunden ist die Induktion der prokoagulatorischen Aktivität der Thrombozyten (34, 62).

ADP übernimmt eine entscheidende Funktion bei der Rekrutierung und Aktivierung noch ruhender Thrombozyten. Des Weiteren ist es maßgeblich an der Verstärkung einer beginnenden Plättchenaktivierung beteiligt. ADP vermittelt über den P<sub>2</sub>X<sub>1</sub>-Rezeptor den schnellen Ca<sup>2+</sup>-Einstrom. Die Interaktion von ADP mit dem P<sub>2</sub>Y<sub>1</sub>-Rezeptor ist verantwortlich für die intrazelluläre Ca<sup>2+</sup>-Mobilisation und den Beginn der Aggregation. Über einen Anstieg der intrazellulären Ca<sup>2+</sup>-Konzentration werden Formwandel und Degranulation der Thrombozyten eingeleitet. Durch Bindung an den P<sub>2</sub>Y<sub>12</sub>-Rezeptor vermittelt ADP eine Potenzierung der Plättchenaktivierung durch andere physiologische Agonisten wie Kollagen, vWF und Thromboxan A<sub>2</sub> und sorgt für die Aktivierung des GPIIb-IIIa-Komplexes. Dadurch wird die solide Aggregation ermöglicht. Das Aggregat imponiert als Thrombozytenpfropf und wird als weißer Thrombus bezeichnet (34, 62, 76).

Abbildung 2 zeigt schematisch die einzelnen Schritte der Thrombozytenadhäsion und -aggregation.



**Abbildung 2:** Schematische Darstellung der Thrombozytenadhäsion (A), der Phase der Stabilisierung (B), der Phase der Aktivierung und Formveränderung (C) und der Phase der Spreizung (D). (Fn=Fibronektin, Col=Kollagen, Lam=Laminin, Tx $A_2$ =Thromboxan  $A_2$ , vWF=von-Willebrand-Faktor).

(aus: Gawaz M, Neumann FJ, Schoemig A. Evaluation of platelet membrane glycoproteins in coronary artery disease: consequences for diagnosis and therapy. *Circulation*. 1999;99: E1-E11)

### 2.2.2 Die sekundäre Hämostase

Der weiße Thrombus ist relativ instabil und wird durch die sekundäre Hämostase stabilisiert. Dies geschieht im Rahmen der plasmatischen Gerinnung durch die Bildung eines Maschenwerks aus Fibrinfäden, in das auch Erythrozyten eingelagert sind (=roter Thrombus). Bei dem plasmatischen Gerinnungssystem handelt es sich um eine Enzymkaskade, in deren Verlauf die einzelnen Gerinnungsfaktoren aktiviert werden. Die sekundäre Hämostase kann in drei Phasen eingeteilt werden: Die Aktivierungsphase, die Koagulationsphase und die Retraktionsphase. Aktivierte Thrombozyten besitzen über verschiedene Me-

chanismen eine prokoagulatorische Aktivität und unterstützen somit die plasmatische Gerinnung (34, 62).

## 2.3 Die thrombozytären Rezeptoren

Die Thrombozyten besitzen eine Reihe verschiedener Adhäsionsrezeptoren, die für die Hämostase eine wichtige Rolle spielen. Bei der Blutgerinnung treten die Thrombozyten in Kontakt mit ihrer Umgebung. So kommt es neben einer Interaktion von Thrombozyten untereinander auch zu Adhäsionsvorgängen mit der subendothelialen Matrix, mit plasmatischen Gerinnungsfaktoren und mit Leukozyten. Diese Kontakte werden über Glykoproteine der Thrombozytenmembran, die als Adhäsionsrezeptoren fungieren, geknüpft (34).

Die thrombozytären Adhäsionsrezeptoren werden gemäß ihrer Struktur in vier unterschiedliche Gruppen eingeteilt: Integrine, leucinreiche Glykoproteine, Selektine und Rezeptoren vom Immunglobulintyp (34, 39). Tabelle 1 gibt einen Überblick über die verschiedenen thrombozytären Membranglykoproteine.

**Tabelle 1:** Thrombozytäre Membranglykoproteine (39)

Klassifizierung	elektrophoretische Klassifizierung	CD-Nomenklatur	Rezeptorzahl pro Plättchen
<b>Integrine</b>			
$\alpha_2\beta_1$	GPIa-IIa	CD49b	1000
$\alpha_5\beta_1$	GPIc-IIa	CD49c	1000
$\alpha_6\beta_1$	GPIc'-IIa	CD49f	1000
$\alpha IIb\beta_3$	GPIIb-IIIa	CD41-CD61	60.000-100.000
$\alpha v\beta_3$	GPav-IIIa	CD51-CD61	100
<b>Leucinreiche Glykoproteine</b>			
-	GPIb-V-IX	CD42a-b-c	25.000
-	GPIV	CD36	15.000-25.000
<b>Selektine</b>			
-	P-Selektin	CD62P	12.000
<b>Rezeptoren vom Immunglobulintyp</b>			
-	ICAM-2	CD102	5000
-	PECAM-1	CD31	3000
<b>Lysosomale Proteine</b>			
-	GP53	CD63	3000

Des Weiteren besitzen die Thrombozyten eine Reihe verschiedener aktivierender und hemmender Rezeptoren, die bei der Blutgerinnung eine wichtige Rolle spielen und zum Teil medikamentös beeinflusst werden können (25, 34, 62).

#### **Aktivierende Rezeptoren:**

- P<sub>2</sub>-Rezeptoren (P<sub>2</sub>X<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>Y<sub>1</sub> und P<sub>2</sub>Y<sub>12</sub>)
- Thrombinrezeptor
- $\alpha$ -adrenerger Rezeptor ( $\alpha_{2A}$ -Rezeptor)
- Platelet-activating-factor-Rezeptor (PAF-Rezeptor)
- Serotoninrezeptor (5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptor)
- Thromboxanrezeptor (TxA<sub>2</sub>-Rezeptor)
- Vasopressinrezeptor (V<sub>1A</sub>-Rezeptor)

#### **Inhibierende Rezeptoren:**

- Adenosin-Rezeptor (A<sub>2A</sub>-Rezeptor)
- $\beta$ -adrenerger Rezeptor ( $\beta_2$ -Rezeptor)
- Prostazyklinrezeptor (PGI<sub>2</sub>-Rezeptor)

### **2.3.1 Die thrombozytären P<sub>2</sub>-Rezeptoren**

Die Plättchenaktivierung durch Adenosinnukleotide nimmt eine zentrale Rolle im Rahmen der Hämostase und der Thrombose ein. Dabei entfalten die Adenosinnukleotide ihre Wirkung auf die Thrombozyten über 3 verschiedene purinerge Rezeptoren (siehe Abbildung 3):

- P<sub>2</sub>Y<sub>1</sub>-Rezeptor
- P<sub>2</sub>Y<sub>12</sub>-Rezeptor
- P<sub>2</sub>X<sub>1</sub>-Rezeptor

Bei dem P<sub>2</sub>Y<sub>12</sub>-Rezeptor und dem P<sub>2</sub>Y<sub>1</sub>-Rezeptor handelt es sich um G-Proteingekoppelte ADP-Rezeptoren. Der P<sub>2</sub>X<sub>1</sub>-Rezeptor ist ein ligandengesteuerter Ionenkanal.

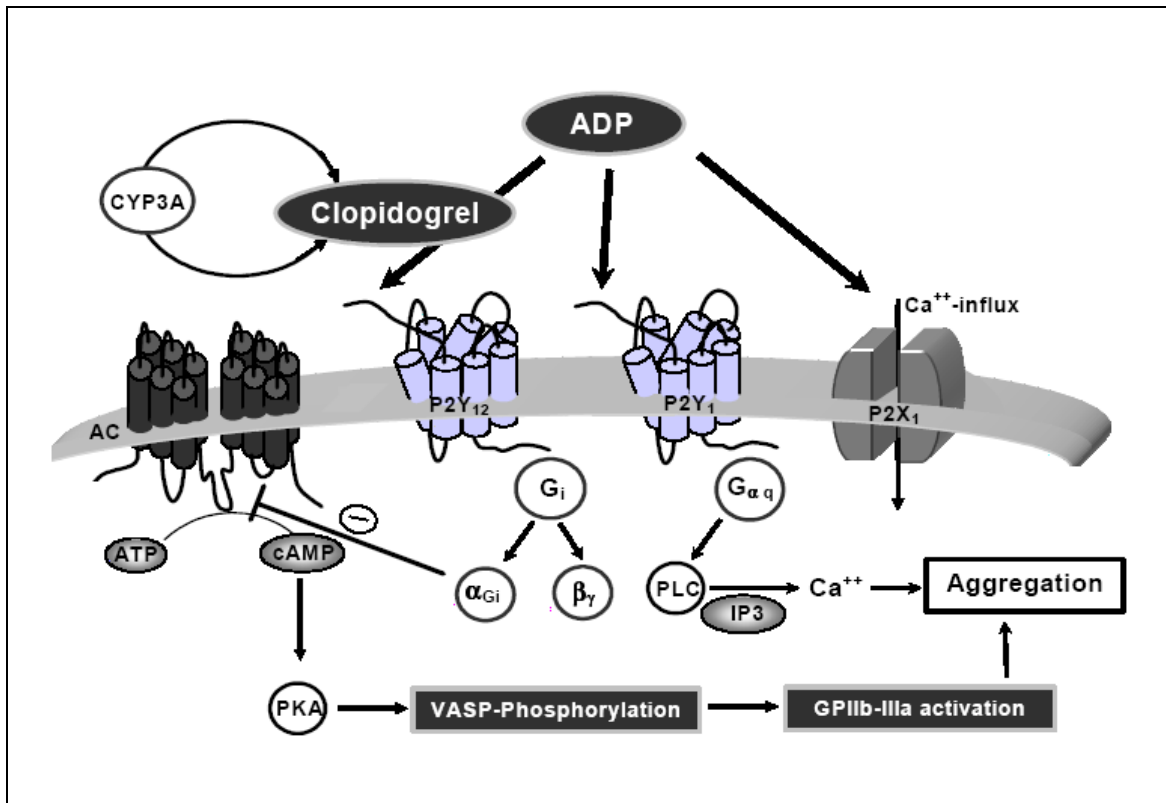
Der  $P_2Y_1$ -Rezeptor ist wichtig für die Formveränderung der Plättchen, den Beginn der Plättchenaggregation, die Bildung von Thromboxan  $A_2$  und die von den Thrombozyten ausgehende prokoagulatorische Aktivität. Darüber hinaus hat er zusammen mit dem  $P_2Y_{12}$ -Rezeptor eine wichtige Funktion bei der ADP-induzierten Aktivierung des Fibrinogenrezeptors.

Für die ADP-induzierte Plättchenaggregation ist eine Koaktivierung der Rezeptoren  $P_2Y_1$  und  $P_2Y_{12}$  notwendig. Eine Aktivierung des  $P_2Y_{12}$ -Rezeptors vermittelt ähnliche Funktionen wie der  $P_2Y_1$ -Rezeptor und führt zudem zu einer Potenzierung der Plättchenaktivierung durch andere physiologische Agonisten wie Kollagen, vWF und Thromboxan  $A_2$ . Über diesen Mechanismus ist er ausschlaggebend beteiligt an der Sekretion der dichten Granula. Ferner vermittelt dieser Rezeptor die Inhibierung der Adenylatcyclase (33, 63, 76).

Aufgrund seiner zentralen Rolle im Rahmen der Thrombusbildung und -stabilisierung ist der  $P_2Y_{12}$ -Rezeptor ein wichtiges Ziel antithrombozytärer Medikamente. Die Substanzklasse der Thienopyridine entfaltet ihre Wirkung durch eine irreversible Inhibierung des  $P_2Y_{12}$ -Rezeptors (33).

Der  $P_2X_1$ -Rezeptor vermittelt als ligandengesteuerter Ionenkanal den schnellen  $Ca^{2+}$ -Einstrom und ist an der Formveränderung der Thrombozyten maßgeblich beteiligt. Ferner ist eine Aktivierung des  $P_2X_1$ -Rezeptors wichtig für die Kollagen-vermittelte Plättchenaktivierung. Der  $P_2X_1$ -Rezeptor lässt sich nicht durch Thienopyridine wie Ticlopidin oder Clopidogrel hemmen (33, 63, 76).





**Abbildung 3:** Die thrombozytären P<sub>2</sub>-Rezeptoren

(AC=Adenylatcyclase, ADP=Adenosindiphosphat, cAMP=zyklisches Adenosinmonophosphat, CYP3A4=Cytochrom P 450 3A4, GPIIb-IIIa=Glykoprotein IIb-IIIa, IP<sub>3</sub>=Inosintri-phosphat, PKA=aktivierte Proteinkinase C, VASP=Vasodilatator-stimuliertes Phosphoprotein)

(aus: Geisler T, Gawaz M. Clopidogrel Resistance/ Clopidogrel-Resistenz. J Lab Med. 2006;30:310-6.)

## 2.4 Die Rolle des Thrombozyten in der Pathophysiologie der koronaren Herzkrankheit

### 2.4.1 Atherogenese

Die KHK entsteht auf dem Boden atherosklerotischer Gefäße. Daher ist die Atherogenese der erste Schritt in der Pathophysiologie der KHK. Atherome enthalten in großen Mengen oxidiertes „Low-density-Lipoprotein“ (LDL) und Schaumzellen. Diese entstehen aus Monozyten beziehungsweise Makrophagen, die lipidhaltiges Material phagozytiert haben. Des Weiteren ist im Be-

reich von Atheromen der Gehalt an glatten Muskelzellen und extrazellulären Fibrillen erhöht (34).

Atherosklerotische Läsionen entstehen durch eine thrombozyteninduzierte chronische Entzündung in der Gefäßwand (35). Am Beginn der Entwicklung eines Atheroms steht die Thrombozytenadhäsion an Endothelzellen.

Während des Adhäsionsprozesses werden die Plättchen aktiviert und sezernieren eine Vielzahl an proinflammatorischen und mitogenen Substanzen in die Umgebung. Im Bereich der Entzündungsreaktion wandern Monozyten ein und differenzieren zu Schaumzellen (35). Darüber hinaus stimulieren aktivierte Thrombozyten die vermehrte Transkription des Nuklear-Faktors  $\kappa\text{B}$  (NF- $\kappa\text{B}$ ). Dies induziert die Transkription NF- $\kappa\text{B}$ -abhängiger Chemokine in Endothelzellen (35, 39).

Über den von Thrombozyten sezernierten Platelet-derived-Growth-Faktor (PDGF) wird auch die Intimaproliferation und Migration glatter Muskelzellen durch aktivierte Plättchen begünstigt (39).

Die Atherogenese stellt einen Prozess dar, der auf einem Zusammenspiel von Thrombozyten, Leukozyten und aktivierten Endothelzellen beruht. Die thrombozyteninduzierte chronische Entzündung nimmt hierbei eine zentrale Stellung ein (35).

#### **2.4.2 Akutes Koronarsyndrom**

Das Akute Koronarsyndrom (ACS) ist gekennzeichnet durch akut einsetzende oder rasch progrediente Symptome einer Minderversorgung des Myokards. Diese ischämische Symptomatik kann von einer Instabilen Angina pectoris (IAP) über einen Nicht-ST-Hebungsinfarkt (NSTEMI) bis hin zum ST-Hebungsinfarkt (STEMI) reichen (97). Ursächlich liegt die Ruptur einer atherosklerotischen Plaque zugrunde, die zu einer Thrombozytenaggregation und Thrombusbildung führt (97). Fragmente dieses Thrombus können embolisieren und in kleineren weiter peripheren Gefäßen zu einer thrombozytenvermittelten

Vasokonstriktion und zum Gefäßverschluß führen (=„minor myocardial injury“) (34).

Die Plaque-Ruptur kann entweder passiv entstehen durch gesteigerte Scherkräfte, die bei körperlicher Anstrengung auf die Plaque einwirken (=passive Plaqueruptur) oder durch die Aktivität von Makrophagen und die Sekretion proteolytischer Enzyme (=aktive Plaqueruptur) (97). Die Plaqueruptur mit nachfolgender Thrombusbildung führt zu einer schnellen Änderung der äußeren Gestalt der atherosklerotischen Läsion. Dies kann zu der akuten Subokklusion oder Okklusion des betroffenen Gefäßes mit der klinischen Manifestation einer IAP oder eines ACS führen. Häufiger jedoch kommt es nach einer Plaqueruptur zur Ausbildung eines wandständigen Thrombus, der sich organisiert und zur raschen Progression der Atherosklerose beiträgt (97).

Bei der Pathophysiologie des ACS spielen Thrombozyten die entscheidende Rolle. Sie sind direkt an der Bildung des intravasalen Thrombus beteiligt, der für den Gefäßverschluß verantwortlich ist und verursacht durch Freisetzung von Serotonin und Thromboxan A<sub>2</sub> einen koronaren Vasospasmus. Darüber hinaus tragen die aktivierten Thrombozyten zu der Induktion einer Entzündungsreaktion bei, die prognostisch ungünstig ist (34, 97).

### **2.4.3 Reperfusion und interventionelle Therapie**

Bei einem akuten Myokardinfarkt kann das thrombotisch verschlossene Gefäß durch die perkutane Koronarangioplastie (PTCA) wieder eröffnet werden. Dadurch wird eine Reperfusion des Infarktgefäßes ermöglicht. Durch Implantation einer koronaren Gefäßstütze (=Stent) kann eine Stabilisierung des angioplastierten Bereichs erreicht werden.

Allerdings kommt es nach einer interventionellen Koronarangioplastie, insbesondere nach koronaren Stentimplantationen zu einer gesteigerten Aktivierung von zirkulierenden Thrombozyten (36, 38).

Der Aktivierungsgrad der Thrombozyten hat Auswirkungen auf die postinterventionelle Prognose. So konnten Tschoepe et al. zeigen, dass eine erhöhte systemische Plättchenaktivierung vor der Intervention das Risiko postinterventioneller ischämischer Komplikationen erhöht (99). Gawaz et al. gelang der Nachweis, dass eine gesteigerte Plättchenaktivität das Risiko erhöht, im weiteren Verlauf nach einer Stentimplantation eine subakute Stentthrombose zu entwickeln (37).

Die herausragende Bedeutung aktivierter Thrombozyten bei der Entstehung des ACS, wie auch ihr entscheidender Einfluss auf die kardiovaskuläre Prognose nach einer Reperfusionstherapie, machen die Wichtigkeit einer anti-thrombozytären Therapie deutlich.

## 2.5 Thienopyridine

Neben bekannten antithrombozytären Medikamenten wie ASS und den GPIIb-IIIa-Antagonisten nimmt die Substanzklasse der Thienopyridine eine wichtige Rolle in der antithrombozytären Therapie ein.

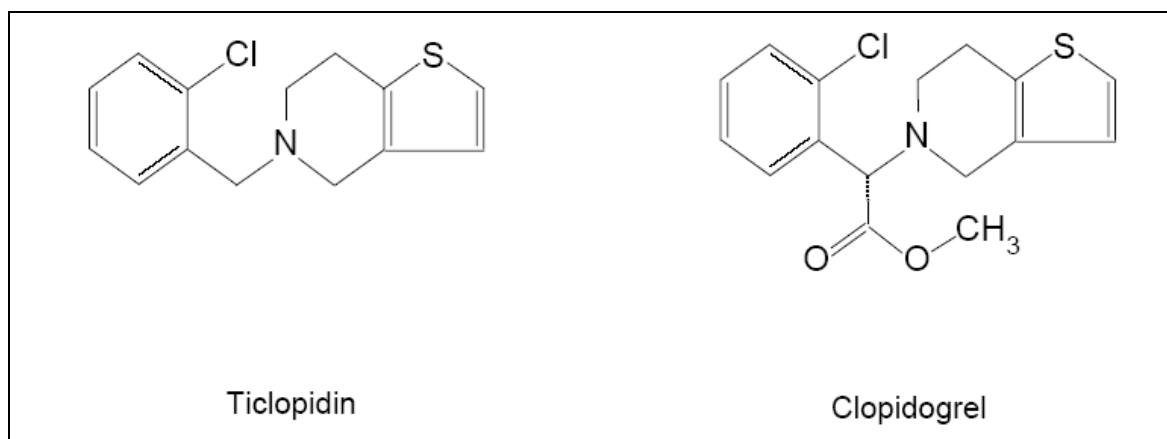
Thienopyridine wirken als irreversible Hemmstoffe des  $P_2Y_{12}$ -Rezeptors der Thrombozyten (29). Im Rahmen der Thrombozytenaktivierung wird ADP in großen Mengen aus den thrombozytären Speichergranula sezerniert. Des Weiteren wird ADP in der Umgebung einer Gewebsläsion vermehrt gebildet und der Abbau von extrazellulärem ADP verringert. Dies führt zu einem starken Anstieg der ADP-Konzentration. ADP wirkt über thrombozytäre ADP-Rezeptoren agonistisch auf die Blutplättchen und verstärkt die Thrombozytenaggregation (34). Bei der Zielstruktur der Thienopyridine, dem  $P_2Y_{12}$ -Rezeptor, handelt es sich um einen heptahelikalen Transmembranrezeptor, der an ein  $G_i$ -Protein gekoppelt ist. Die Thienopyridine hemmen diesen Rezeptor und verhindern dadurch folgende Wirkungen des ADPs (29, 34):

- ADP-vermittelte Sekretion der  $\alpha$ -Granula und nachfolgende P-Selektin-Expression auf aktivierten Plättchen.
- ADP-vermittelte Inhibierung der Adenylatcyclase; dadurch wird die ADP-induzierte Abnahme des cAMP-Spiegels verhindert.
- ADP-vermittelte Aktivierung des GPIIb-IIIa-Rezeptors mit nachfolgender Plättchenaggregation und Thrombusbildung.
- ADP-vermittelte Sekretion der dichten Granula.
- ADP-vermittelte Bildung von Thromboxan  $A_2$ .

Des Weiteren wird durch Ticlopidin und Clopidogrel die Plättchenadhäsion an extrazelluläre Strukturen des Subendothels und die Intimaproliferation gehemmt. Darüber hinaus wurde für Clopidogrel ein effektivitätssteigernder Effekt auf die Fibrinolyse beschrieben (83).

Auf den  $P_2X_1$ -Rezeptor und den  $P_2Y_1$ -Rezeptor der Thrombozyten haben die Thienopyridine keinen Einfluss (33).

Zu der Substanzklasse der Thienopyridine gehört neben den beiden Substanzen Ticlopidin und Clopidogrel auch das neue Medikament Prasugrel. Strukturell sind sich Ticlopidin und Clopidogrel sehr ähnlich (siehe Abbildung 4: Strukturformeln), sie unterscheiden sich aber in ihrem Nebenwirkungsspektrum und in ihren pharmakologischen Eigenschaften.



**Abbildung 4:** Strukturformeln der Moleküle Ticlopidin und Clopidogrel

Ticlopidin hemmt irreversibel den  $P_2Y_{12}$ -Rezeptor der Thrombozyten und erreicht bei einer täglichen Dosis von 500 mg seine maximale antithrombozytäre Wirkung nach 4-7 Tagen. Unter der Behandlung mit Ticlopidin kann es zu schwerwiegenden Nebenwirkungen wie Blutbildveränderungen und einer thrombotisch-thrombozytopenischen Purpura kommen.

Die Weiterentwicklung der Substanz führte zu dem nebenwirkungsärmeren Wirkstoff Clopidogrel, der sich von Ticlopidin nur in einer Seitengruppe unterscheidet.

Clopidogrel kann in seltenen Fällen auch zu schweren Neutropenien führen, allerdings tritt diese Nebenwirkung bei Clopidogrel viel seltener auf (in 0,05 % der Fälle) (22), als bei Ticlopidin (in 0,9 % der Fälle) (52). Darüber hinaus umfasst das Nebenwirkungsprofil von Clopidogrel das Auftreten von Thrombozytopenien und Blutungen. Es konnte aber keine signifikante Zunahme der Häufigkeit lebensbedrohlicher oder letaler Blutungen beobachtet werden.

Weitere unerwünschte Arzneimittelwirkungen von Clopidogrel sind gastrointestinale Beschwerden wie Diarrhoe oder Obstipation und unspezifische Symptome im Sinne von Kopfschmerzen, Benommenheit, Pruritus und exanthematösen Hautveränderungen (22).

### **2.5.1 Pharmakokinetik von Clopidogrel**

Clopidogrel wird oral verabreicht und zu 80-90 % im Dünndarm absorbiert. Antacida können die Resorptionsrate von Clopidogrel verringern (34, 61).

Bei Clopidogrel handelt es sich um ein Pro-Pharmakon. Die Substanz wird in der Leber zu dem aktiven Metaboliten metabolisiert. Dieser Vorgang wird von dem Cytochrom(CYP)-P450-System katalysiert, wobei vor allem die Isoenzyme CYP3A4, CYP3A5 und CYP2C19, in geringerem Ausmaß auch CYP2B6, CYP1A2 und CYP2C9 für die Aktivierung verantwortlich sind (2, 17, 24, 103). Das Pro-Pharmakon Clopidogrel wird in der Leber zunächst mittels einer Mo-

noxygenase zu 2-Oxo-Clopidogrel oxidiert. Dieses wird anschließend hydroliert, wobei der aktive Thiol-Metabolit entsteht (85). Dieser kann dann irreversibel an den P<sub>2</sub>Y<sub>12</sub>-Rezeptor binden und dort seine hemmende Wirkung entfalten (28, 85). Bei der Biotransformation von Clopidogrel entsteht neben dem aktiven Thiol-Metaboliten aus einem Großteil des in der Leber ankommenden Clopidogrels ein Carbonsäurederivat, das keine antiaggregatorische Wirkung besitzt (21).

### **2.5.2 Anwendung und Dosierung von Clopidogrel**

Die Anwendung von Clopidogrel erfolgt bei Patienten mit ACS in Kombination mit ASS (14, 106). Weitere Indikationen für den Einsatz von Clopidogrel sind die Prävention atherothrombotischer Ereignisse bei Patienten mit einem stattgehabten Herzinfarkt oder Schlaganfall und nach intrakoronarer Stentimplantation (13, 70). Darüber hinaus wird Clopidogrel bei nachgewiesener peripherer arterieller Verschlusskrankheit (PAVK) eingesetzt.

Nach einer Koronarintervention ist die duale antithrombozytäre Therapie bestehend aus Clopidogrel und ASS einer Monotherapie mit ASS alleine deutlich überlegen. In der CAPRIE-Studie konnte eine Reduktion des relativen Risikos für erneute kardiovaskuläre Ereignisse um 7,9 % bei der Therapie mit Clopidogrel im Vergleich zu ASS festgestellt werden (22). In der PCI-CURE-Studie wurde untersucht, ob die Kombinationstherapie mit Clopidogrel und ASS im Vergleich zur alleinigen ASS-Gabe Vorteile bezüglich des Risikos für kardiovaskuläre Komplikationen nach perkutaner Koronarintervention bringt. Es zeigte sich ein Vorteil der dualen antithrombozytären Therapie durch eine Risikoreduktion von 31 % im Vergleich zu ASS alleine (70). Nicht zuletzt deshalb ist die duale antithrombozytäre Therapie bestehend aus Clopidogrel und ASS heute therapeutischer Goldstandard für kardiovaskuläre Patienten, die mit einer koronaren Stentimplantation behandelt wurden.

Die ACC/AHA/SCAI-Leitlinien von 2006 empfehlen die Gabe einer Initialdosis von 300 mg Clopidogrel vor Durchführung der Koronarintervention. Bei Gabe von höheren Initialdosen kann ein schnellerer Wirkungseintritt und eine stärkere Plättchenhemmung erreicht werden, allerdings auf Kosten einer geringeren Medikamentensicherheit im Vergleich zu einer 300-mg-Initialdosis (89).

Jüngst konnten verschiedene Studien die Überlegenheit einer Initialdosis von 600 mg bezüglich antithrombozytärer Wirkung, Ansprechrate und des Auftretens thrombotischer Komplikationen in der Frühphase nach der Intervention zeigen (5, 50).

Nach Gabe von 600 mg Clopidogrel wird die volle antithrombozytäre Wirksamkeit des Medikaments nach 2 Stunden erreicht (54).

Nach einer Koronarintervention wird gemäß den ACC/AHA/SCAI-Leitlinien von 2006 die Fortführung der Therapie mit 75 mg/d Clopidogrel für optimalerweise 12 Monate empfohlen, solange kein erhöhtes Blutungsrisiko besteht (89).

Bei Patienten mit einem Hochrisikoprofil, bei denen eine subakute Stentthrombose letale Folgen hätte, wird eine Erhöhung der Erhaltungsdosis von 75 mg/d auf 150 mg/d bei messtechnischem Nachweis einer Plättchenhemmung <50 % gemäß den Leitlinien empfohlen (89). Verschiedene Studien konnten durch dieses Vorgehen eine gesteigerte antithrombozytäre Wirksamkeit von Clopidogrel nachweisen (3, 6, 11).

Bei den Patienten, die mit Clopidogrel behandelt werden, konnten große Unterschiede im Ansprechen auf dieses Medikament beobachtet werden. Ein beträchtlicher Anteil der Patienten, die eine koronare Stentimplantation erhielten spricht nicht ausreichend auf Clopidogrel an und ist dadurch einem erhöhten Risiko thrombotischer Komplikationen ausgesetzt (74).

## **2.6 Clopidogrel-Resistenz**

Beim Ansprechen auf Clopidogrel bestehen große interindividuelle Unterschiede. Die Ansprechrate auf Clopidogrel folgt einer Normalverteilung (87). Bei ei-



nem erheblichen Anteil der Patienten (5-30 %), die mit Clopidogrel behandelt werden, wird keine ausreichende Hemmung der Thrombozytenaggregation erreicht (74). Dies hat zu der Etablierung des Begriffes „Clopidogrel-Resistenz“ geführt.

Die Clopidogrel-Resistenz beschreibt die fehlende oder nicht ausreichende pharmakologische Wirkung des Medikaments oder das Auftreten atherothrombotischer Komplikationen trotz der entsprechenden antithrombozytären Therapie (41).

### **2.6.1 Messmethoden zur Bestimmung der pharmakologischen Wirksamkeit von Clopidogrel**

Zur Quantifizierung der pharmakologischen Wirksamkeit von Clopidogrel stehen verschiedene Messmethoden zur Verfügung.

Ein zuverlässiger Labortest besteht in der durchflusszytometrischen Bestimmung des Phosphorylierungsgrades des Vasodilator-stimulierten Phosphoproteins (VASP). Die Phosphorylierung von VASP ist abhängig von dem Aktivierungsgrad des  $P_2Y_{12}$ -Rezeptors, der durch Clopidogrel gehemmt wird (1).

Eine weitere Möglichkeit das pharmakodynamische Ansprechen auf Clopidogrel zu untersuchen, ist der „Platelet Adhesion Assay“ (PADA). PADA bestimmt quantitativ die Plättchenadhäsion und ist zum therapeutischen „Drug-Monitoring“ von Thienopyridinen geeignet (86).

Auch mit Hilfe der durchflusszytometrischen Quantifizierung von Plättchenaktivierungsmarkern kann die Wirksamkeit von Clopidogrel untersucht werden (71).

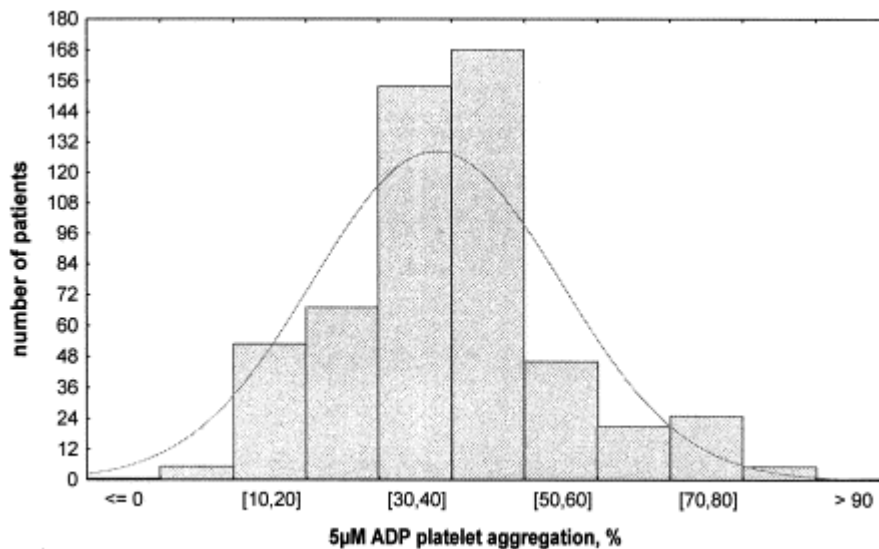
Goldstandard zur Überprüfung der Wirksamkeit antithrombozytärer Substanzen stellt die ADP-induzierte Plättchenaggregation dar (19). Bei dieser Messmethode wird die Lichttransmission durch plättchenreiches Plasma bestimmt und in Bezug gesetzt zur Lichttransmission durch plättchenarmes Plasma. Zugegebe-

nes ADP induziert die Plättchenaggregation. Durch die Aggregatbildung nimmt die Lichttransmission durch das plättchenreiche Plasma zu. Da Clopidogrel die Thrombozytenaggregation hemmt, kann das Ausmaß der ADP-induzierten Zunahme der Lichttransmission als Maßstab für die antithrombozytäre Wirkung von Clopidogrel genutzt werden. Hierbei ist die Wirksamkeit des Medikaments umso höher, je geringer die ADP-induzierte Zunahme der Lichttransmission ausfällt (19). Diese Methode wurde in der hier vorliegenden Studie zur Quantifizierung der pharmakologischen Wirksamkeit von Clopidogrel angewandt.

### **2.6.2 Prävalenz der Clopidogrel-Resistenz**

Die verschiedenen Definitionen für eine Clopidogrel-Resistenz und für den „Low-Responder“-Status weichen voneinander ab. Ebenso stehen unterschiedliche Messmethoden für die Bestimmung der Clopidogrel-Wirkung zur Verfügung. Die gemessene Prävalenz der Clopidogrel-Resistenz ist abhängig von der angewandten Messmethode, den zugrunde gelegten Definitionen und auch von therapeutischen Einflüssen wie Dosierung oder Zeitpunkt der Messung. Deshalb ist es nicht überraschend, dass unterschiedliche Studien verschiedene Prävalenzen ermitteln konnten.

Serebruany et al. untersuchten 544 Personen, die mit Clopidogrel behandelt wurden, auf ihr Ansprechverhalten auf dieses Medikament. Sie konnten feststellen, dass die residuelle Plättchenaggregation (RPA) bei Clopidogreltherapie große interindividuelle Unterschiede aufweist und einer Normalverteilung entspricht (siehe Abbildung 5) (87).



**Abbildung 5:** Verteilung der durch 5-µmol/l-ADP induzierten residuellen Plättchenaggregation bei 544 mit Clopidogrel therapierten Patienten.

(aus: Serebruany SR, Berger PB, Malinin AI, Bhatt DL, Topol EJ. Variability in platelet responsiveness to Clopidogrel among 544 individuals. J Am Coll Cardiol. 2005; 45: 246-51)

In weiteren Studien zeigte sich, dass es sich bei der Clopidogrel-Resistenz um ein zeit- und dosisabhängiges Phänomen handelt. Je nach Messmethode und angewandter Definition konnte eine Prävalenz des „Low-Responder“-Status von 5-30 % ermittelt werden (27, 51, 68, 74, 87).

### 2.6.3 Klinische Bedeutung der Clopidogrel-Resistenz

Die antithrombozytäre Therapie mit Clopidogrel soll bei Patienten nach koronarer Stentimplantation die Rate kardiovaskulärer Ereignisse senken.

Da jedoch große Unterschiede beim Ansprechen auf Clopidogrel bestehen, ist es wichtig zu untersuchen, ob diese Medikamentenresistenz auch einen Einfluss auf die kardiovaskuläre Prognose hat.

Nachdem bereits Müller et al. (74) und Matetzky et al. (68) einen schlechteren Verlauf bei Patienten mit geringerem Ansprechen auf Clopidogrel beobachte-

ten, gelang es Geisler et al., einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen dem Clopidogrel-„Low-Responder“-Status und der kardiovaskulären Prognose stentimplantierter Patienten nachzuweisen: 379 Patienten mit symptomatischer KHK und koronarer Stentimplantation wurden über einen Nachverfolungszeitraum von 3 Monaten beobachtet. Als Endpunkte dienten das Auftreten unerwünschter kardiovaskulärer Ereignisse und der kardiovaskulär bedingte Tod. Der Clopidogrel-„Low-Responder“-Status war sowohl mit einem erhöhten Risiko für das Auftreten erneuter kardiovaskulärer Ereignisse ( $p=0,004$ ) als auch mit einem erhöhten Risiko für den kardiovaskulär bedingten Tod ( $p=0,002$ ) statistisch signifikant assoziiert (45).

Die Arbeitsgruppe von Cuisset et al. konnte diese Ergebnisse bestätigen. Sie wiesen bei Patienten mit ACS-bedingter Stentimplantation für das Patientenquartil mit dem schlechtesten Ansprechen auf Clopidogrel im Vergleich zu den anderen 3 Quartilen ein erhöhtes Risiko für ein kardiovaskuläres Ereignis mit einer Odds Ratio (OR) von 22,4 und einem 95%-Konfidenzintervall von 4,6-109 nach (26).

#### **2.6.4 Mögliche Ursachen der Clopidogrel-Resistenz**

In der Literatur wurden verschiedene Faktoren mit dem Auftreten einer erhöhten thrombozytären Restaktivität unter antithrombozytärer Therapie mit ASS und Clopidogrel in Zusammenhang gebracht. Einer erhöhten thrombozytären Restaktivität trotz dualer antithrombozytärer Therapie können extrinsische Faktoren wie mangelnde „Compliance“, Unterdosierung oder Medikamenteninteraktionen wie auch intrinsischen Mechanismen (z.B. genetische Polymorphismen oder metabolische Störungen) zugrunde liegen (43, 46).

Polymorphismen in bestimmten hepatischen Cytochromen können zu einer verringerten Wirksamkeit der antithrombozytären Therapie führen, da Clopidogrel als Pro-Pharmakon in der Leber aktiviert werden muss. Geisler et al. konnten zeigen, dass Träger eines CYP2C19\*2 Polymorphismus eine statistisch signifikant erhöhte thrombozytäre Restaktivität trotz antithrombozytärer Therapie mit

Clopidogrel und ASS aufweisen (OR: 4,6; 95%-Konfidenzintervall: 2,5-8,7;  $p < 0,0001$ ). Für die Polymorphismen CYP3a4\*1b und CYP3a4\*3 konnte ein solcher Zusammenhang nicht nachgewiesen werden (46). Dies konnte in verschiedenen weiteren Studien bestätigt werden (32, 47, 98).

Für Polymorphismen in Genen, die für den P<sub>2</sub>Y<sub>12</sub>-Rezeptor, den P<sub>2</sub>Y<sub>1</sub>-Rezeptor und das GP IIIa kodieren, konnte kein Einfluss auf die große interindividuelle Variabilität im Ansprechen auf Clopidogrel nachgewiesen werden (66).

Genetische Varianten für bestimmte Cytochrome sind demnach mitverantwortlich für die großen interindividuellen Unterschiede im Ansprechen auf Clopidogrel.

Die Aktivität der Cytochrome ist allerdings nicht nur genetisch determiniert, sondern wird auch durch Medikamente beeinflusst. Medikamenteninteraktionen können zur Hemmung bestimmter Cytochrome wie auch zu deren Aktivierung führen (103). Aus diesem Grund ist die Begleitmedikation, z. B. mit Protonenpumpeninhibitoren, ein Faktor, der die thrombozytäre Restaktivität bei mit Clopidogrel behandelten Patienten beeinflusst.

Darüber hinaus nehmen verschiedene nicht-genetische klinische Faktoren Einfluss auf die residuelle Plättchenaktivität unter Clopidogrel-Therapie.

Eine Studie von Geisler et al. konnte nachweisen, dass Diabetiker ein signifikant geringeres Ansprechen auf eine 600mg-Clopidogrel-Initialdosis zeigen als Nicht-Diabetiker ( $p = 0,01$ ). Besonders die Untergruppe der Diabetiker mit ACS zeigt im Vergleich zu Nicht-Diabetikern eine abgeschwächte Clopidogrel-Wirkung ( $p = 0,002$ ) (40).

Marcucci et al. konnten ebenfalls einen statistisch signifikanten Einfluss des Diabetes mellitus auf die RPA belegen. Darüber hinaus wiesen sie nach, dass auch das Vorliegen einer reduzierten linksventrikulären Funktion als unabhängiger Faktor statistisch signifikant mit einer erhöhten thrombozytären Restaktivität trotz ASS- und Clopidogrel-Therapie einhergeht (67).

Auch die Art des kardialen Ereignisses beeinflusst das Ansprechen auf Clopidogrel. Eine Studie von Geisler et al. konnte bei Vorliegen eines ACS eine statistisch signifikant höhere residuelle Plättchenaktivität trotz der gebräuchlichen antithrombozytären Therapie mit Clopidogrel und ASS nachweisen (OR: 2,4; 95%-Konfidenzintervall: 1,3-4,4;  $p < 0,01$ ) (44).

Eine verringerte antithrombozytäre Wirksamkeit wurde auch bei einem Alter  $> 55$  Jahre (79) sowie bei Vorliegen einer chronischen Niereninsuffizienz (10, 65) beobachtet.

Demnach ist das verringerte Ansprechen auf die antithrombozytäre Therapie mit Clopidogrel ein Phänomen, das mit vielen unterschiedlichen Faktoren assoziiert ist. Aufgrund der vielfältigen Einflussgrößen und der großen Prävalenz handelt es sich bei der Clopidogrel-Resistenz um ein ernst zu nehmendes klinisches Problem.

### 3 Zielsetzung

Aufgrund der hohen Prävalenz der Clopidogrel-Resistenz (5-30 %) muss davon ausgegangen werden, dass bei einer antithrombozytären Therapie mit Clopidogrel ein nicht zu vernachlässigender Teil der Patienten nicht ausreichend vor atherothrombotischen Komplikationen geschützt ist. Die Wirksamkeit der antithrombozytären Therapie kann messtechnisch in der klinischen Routine jedoch nicht immer und aufgrund der labortechnischen Ausstattung auch nicht in jeder Klinik erfasst werden. Daher werden Risikoscores benötigt, die helfen, die Wahrscheinlichkeit eines inadäquaten Therapieansprechens einzuschätzen. Ziel der hier vorliegenden Studie ist die Entwicklung eines solchen Scoring-Systems (PREDICT-Score) mit Variablen, die im klinischen Alltag schnell und unproblematisch zu erheben sind.

Verschiedene klinische und demographische Faktoren wurden bereits mit einer verringerten Wirksamkeit der antithrombozytären Therapie mit Clopidogrel in Zusammenhang gebracht. In dieser Studie sollen mögliche Einflussfaktoren für ein vermindertes Ansprechen auf Clopidogrel in einer großen unselektierten Kohorte von Patienten mit symptomatischer koronarer Herzkrankheit evaluiert und aus den Ergebnissen der Risikoscore entwickelt werden.

In die primäre Analyse gehen folgende Risikofaktoren ein:

- Nikotinabusus
- Diabetes mellitus
- arterielle Hypertonie
- Niereninsuffizienz (Serumkreatinin-Wert >1,5 mg/dl)
- Hypercholesterinämie
- eingeschränkte linksventrikuläre Pumpfunktion (<55 % Auswurffraktion)
- Alter („Cut-off“-Wert von 65 Jahren)
- Geschlecht
- Akutes Koronarsyndrom
- aktuelle oder vorangegangene Komedikation mit Statinen
- 3-Gefäß-KHK

## 4 Material, Methoden und Patienten

### 4.1 Studienpopulation und Studiendesign

Die vorliegende Studie wurde als monozentrische Studie an der Medizinischen Klinik III des Universitätsklinikums Tübingen durchgeführt. Von März 2005 bis Dezember 2006 wurden 1125 Patienten kontinuierlich in die Studie eingeschlossen. Von 1092 Patienten (=97,1 %) konnten alle notwendigen Daten erhoben werden. Diese Patienten wurden in die weitere Analyse einbezogen.

Bei dem Patientenkollektiv handelt es sich um Patienten mit symptomatischer Koronarer Herzkrankheit, die sich entweder aufgrund einer Stablen Angina pectoris (n=529) oder eines Akuten Koronarsyndroms (n=563) einer Herzkatheteruntersuchung mit Stentimplantation unterzogen.

Das ACS wurde diagnostiziert bei Instabiler Angina pectoris, gekennzeichnet durch neu aufgetretene ischämische Beschwerden mit EKG-Veränderungen jedoch ohne infarkttypische Enzymveränderungen (Troponin oder CKMB) und bei akutem Myokardinfarkt (infarkttypische Enzymveränderungen mit ST-Hebungen (STEMI) oder ohne ST-Hebungen (NSTEMI)).

Einschlusskriterien waren ein Alter über 18 Jahre und das schriftliche Einverständnis der Patienten. Nicht in die Studie aufgenommen wurden Patienten mit bekannter Thrombozytendysfunktion.

Die betroffenen Patienten wurden über die Durchführung und Bedeutung der Studie aufgeklärt und erklärten sich schriftlich damit einverstanden, an der Studie teilzunehmen. Ein Exemplar des Aufklärungsbogens sowie der Teilnahmeerklärung befinden sich im Anhang.

Die Studie wurde von der lokalen Ethikkommission geprüft und positiv bewertet.

Die demographischen Daten der Studienpopulation zeigt Tabelle 2.



**Tabelle 2:** Demographische Daten der Studienpopulation

Variable	Patienten (n=1092)	
Geschlecht, m/w (%)	806 / 286 (73,8 / 26,2)	
Alter [Jahre] <sup>1</sup>	67,5 ± 10,8	
Alter >65 Jahre (%)	675 (61,8)	
Body Mass Index <sup>2</sup>	27,3 (5,2)	
Akutes Koronarsyndrom (%)	564 (51,7)	
STEMI (%)	193 (17,7)	
NSTEMI (%)	225 (20,6)	
Linksventrikuläre Funktion (%)		
Auswurfraction 45-55 %	239 (21,9)	
Auswurfraction 35-45 %	183 (16,8)	
Auswurfraction <35 %	107 (9,8)	
Arterielle Hypertonie (%)	876 (80,2)	
Hyperlipidämie (%)	641 (58,7)	
Diabetes mellitus (%)	363 (33,2)	
Insulinabhängig (%)	137 (15,8)	
Nikotinabusus (%)	425 (38,9)	
Mehrfäß-KHK (%)	816 (74,9)	
Serumkreatinin [mg/dl] <sup>2</sup>	1,1 (0,4)	
Niereninsuffizienz (Serumkreatinin >1,5 mg/dl) (%)	207 (19,0)	
Medikation (%)		
Statine	953 (87,4)	
ACE-Hemmer	876 (80,6)	
Angiotensin-Rezeptor-Blocker	139 (12,8)	
β-Blocker	1001 (92,1)	
Myokardinfarkt in der Vorgeschichte (%)	222 (27,4)	
Stents (%)		
unbeschichtet	793 (72,6)	
beschichtet	206 (18,9)	
beschichtet und unbeschichtet	93 (8,5)	
Zeitdifferenz zwischen ID und Aggregometrie [h] <sup>2</sup>	24,8 (21,9)	
<sup>1</sup> Mittelwert ±Standardabweichung	<sup>2</sup> Median (Quartilabstand)	ID=Initialdosis

## 4.2 Thrombozytenaggregationshemmung

Die Patienten erhielten kurz vor oder während der Herzkatheteruntersuchung eine Clopidogrel-Initialdosis von 600 mg. Im weiteren Verlauf wurde die anti-thrombozytäre Therapie mit 75 mg/d Clopidogrel für mindestens 3 Monate fortgeführt.

Patienten, die sich zum Zeitpunkt der Intervention bereits unter einer Clopidogrel-Dauertherapie von 75 mg/d befanden (n=155, 14,2 %), erhielten vor dem Eingriff erneut eine Aufsättigungsdosis von 300 mg Clopidogrel und im weiteren Verlauf ebenfalls 75 mg/d Clopidogrel für mindestens 3 Monate.

Falls zusätzlich zu Clopidogrel ein GPIIb-IIIa-Antagonist (Abciximab) verabreicht wurde, wurde die Messung der Thrombozytenaggregation erst eine Woche postinterventionell durchgeführt.

Als zusätzliche antithrombozytäre Therapie erhielten alle Patienten vor der Koronarangiographie 500 mg ASS intravenös und im weiteren Verlauf 100 mg/d ASS oral.

Während der Intervention wurde allen Patienten unfraktioniertes Heparin in einer Dosierung von 70 U/kg Körpergewicht verabreicht.

## 4.3 Gewinnung und Verarbeitung der Blutproben

Frühestens 6 Stunden nach Gabe der Initialdosis von 600 mg Clopidogrel wurde die Blutentnahme zur Bestimmung der Clopidogrel-induzierten Plättchenaggregationshemmung durchgeführt, um eine maximale Thrombozytenaggregationshemmung zu gewährleisten. Bei denjenigen Patienten, die aufgrund einer bereits bestehenden Clopidogrel-Dauertherapie bei der Intervention eine Aufsättigungsdosis von 300 mg erhielten, wurde die Blutentnahme erst nach 24 Stunden vorgenommen.

Bei Patienten, die periinterventionell zusätzlich mit einem GPIIb-IIIa-Antagonist behandelt wurden, wurde die Messung erst eine Woche nach Verabreichung der Initialdosis durchgeführt, um Überlagerungseffekte zu vermeiden.

Aus einer Oberarmvene des Patienten wurde ein 10ml-Citrat-Röhrchen (SARSTEDT Monovette Coagulation NC/10 ml, Firma Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland) abgenommen und innerhalb von einer Stunde weiterverarbeitet. Zunächst wurde die Blutprobe bei 1000 Umdrehungen/Minute und einer Temperatur von 20 °C für 10 Minuten ohne Bremse zentrifugiert. Dadurch wurde das plättchenreiche Plasma (PRP) für die aggregometrische Messung gewonnen.

Bei dieser, sowie bei der später folgenden zweiten Zentrifugation wurde eine Zentrifuge der Firma Heraeus (Hanau, Deutschland), Modell Megafuge 1.0 R verwendet. Zum Pipettieren dienten ausschließlich Pipetten der Firma Eppendorf (Hamburg, Deutschland).

Von dem gewonnenen PRP wurden 1000 µl vorsichtig vom Bodensatz abpipettiert und in einem Reagenzglas (5ml-PS-Röhrchen, Firma Greiner Bio-One, Frickenhausen, Deutschland) gesammelt. Weitere 500 µl PRP wurden in ein Eppendorf-Gefäß gegeben und für die Bestimmung der Thrombozytenkonzentration im PRP verwendet. Diese Messung wurde am Gerät Sysmex SE 9000 (Firma Sysmex Corporation, Japan) durchgeführt.

Anschließend wurde die Blutprobe ein zweites Mal für 10 Minuten zentrifugiert, um plättchenarmes Plasma (PPP) zu erhalten. Diese Zentrifugation erfolgte bei 20 °C und einer Drehzahl von 3500 Umdrehungen/Minute.

Die Thrombozytenkonzentration im zuvor gewonnenen PRP wurde vor der Aggregation auf einen Wert von  $\leq 200 \times 10^3 /\mu\text{l}$  justiert. Falls im PRP eine Thrombozytenkonzentration  $> 200 \times 10^3 /\mu\text{l}$  gemessen wurde, wurde das PRP durch Zugabe einer entsprechenden Menge PPP auf den gewünschten Wert eingestellt.

Nach der Durchführung des eventuell notwendigen Verdünnungsvorgangs erfolgte nach folgendem Schema das Befüllen der Glasküvetten (Firma Probe &

Go Labordiagnostica, Endingen, Deutschland), die für die aggregometrische Messung benutzt wurden:

- **Küvette 1:** 490µl PRP  
1 standardisierter Magnetrührfisch (Stir Bars, siliconized, Firma Probe & Go Labordiagnostica, Endingen, Deutschland)
- **Küvette 2:** 500µl PPP

Hierbei wurde auf das Vermeiden von Luftblasen besonders geachtet.

#### 4.4 Thrombozytenaggregometrie

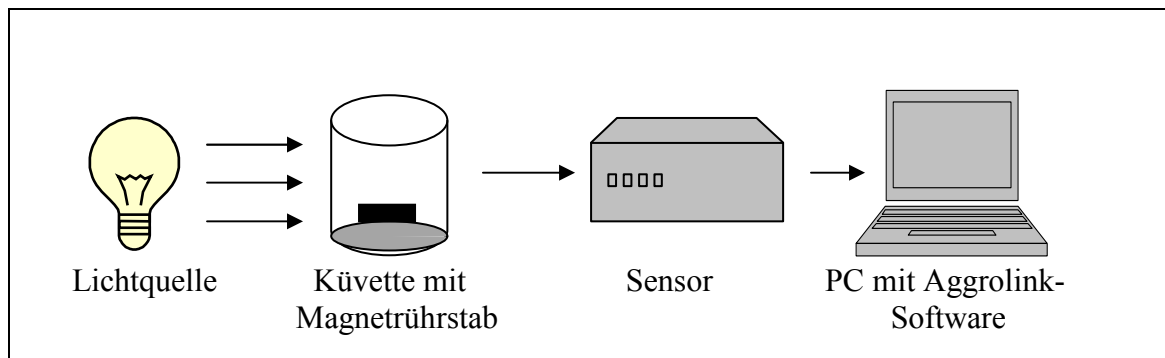
Die Methode der Thrombozytenaggregation wurde 1962 erstmals von Born beschrieben. Sie dient der Untersuchung der Thrombozytenfunktion und erlaubt es die medikamentös induzierte Thrombozytenaggregationshemmung zu erfassen (19). Das Prinzip basiert auf der Messung der Lichttransmission durch plättchenreiches Plasma, die in Bezug gesetzt zu der Lichttransmission durch plättchenarmes Plasma.

Das PRP wird in einer Küvette zwischen einer Lichtquelle und einer Fotozelle platziert. Die Messung erfolgt bei 37 °C und unter ständigem Rühren mit einem Magnetrührfisch (Stir Bars, siliconized, Firma Probe & Go Labordiagnostica, Endingen, Deutschland). Durch Zugabe von ADP, das ein Induktor der Plättchenaggregation ist, aggregieren die Thrombozyten im PRP. Aufgrund der Aggregatbildung nimmt die Lichttransmission durch das PRP zu. Die Lichtdurchlässigkeit des PRP wird kontinuierlich mit einem Schreiber aufgezeichnet, wodurch eine Kurve entsteht, die die optische Dichte des Mediums darstellt. Da Clopidogrel die Thrombozytenaggregation hemmt, kann das Ausmaß der ADP-induzierten Zunahme der Lichttransmission als Maßstab für die antithrombozytäre Wirkung von Clopidogrel genutzt werden. Hierbei ist die Wirksamkeit

des Medikaments umso höher, je geringer die ADP-induzierte Zunahme der Lichttransmission ausfällt (19).

Im Strahlengang des Aggregometers (siehe Abbildung 6) befindet sich außer dem PRP auch die Küvette mit dem PPP. Die Lichtdurchlässigkeit des PPP dient dabei als Referenzwert und wird mit 100 % angegeben. Die optische Dichte des PRPs vor Induktion der Thrombozytenaggregation wird definiert als 0 % Lichttransmission.

Die Eichung zwischen plättchenreichem und plättchenarmem Plasma wird vom Gerät automatisch vollzogen.



**Abbildung 6:** Darstellung des Strahlengangs im Aggregometer

#### 4.4.1 Durchführung der Messung

Die Thrombozytenaggregometrie wurde an einem Aggregometer der Firma Chrono-Log, Modell 1-800 Serie 490 (Firma Probe & Go Labordiagnostica, Endingen, Deutschland) durchgeführt.

Die beiden Glasküvetten mit dem PPP und PRP wurden in die Messkammern des Aggregometers gestellt und auf 37 °C vorgewärmt.

20 µM ADP (CHRONO-PAR ADP-REAGENZ, Firma Probe & Go Labordiagnostica, Endingen, Deutschland), das in Mengen von 21 µl bei -20 °C in Eppendorf-Gefäßen aufbewahrt wurde, wurde bereits zuvor auf Raumtemperatur gebracht und bereitgestellt.

Die Messung erfolgte unter ständigem Rühren des PRP mit einem standardisierten Magnetrührfisch (Stir Bars, siliconized, Firma Probe & Go Labordiagnostica, Endingen, Deutschland).

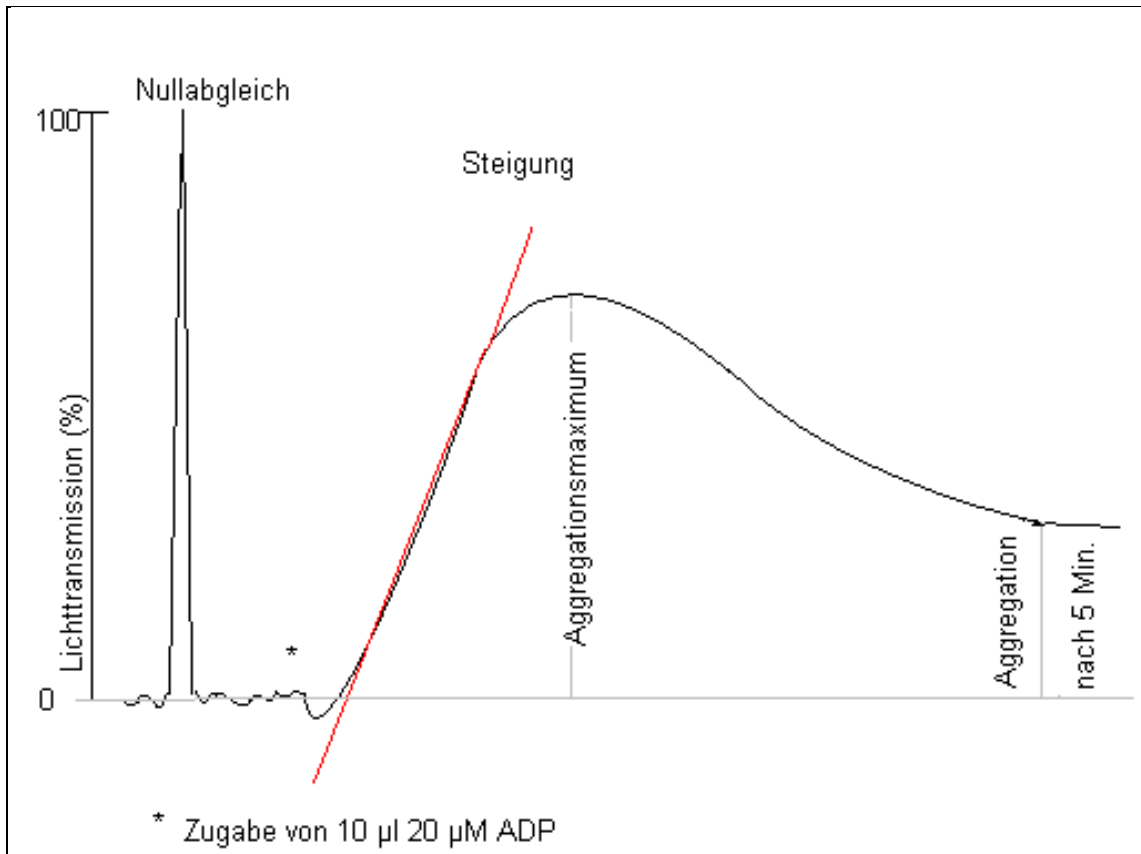
Zu Beginn der Messung erfolgte zunächst ein Nulllinienabgleich der beiden Schreiber. Genau 2 Minuten später wurden in die Küvette mit dem PRP 10  $\mu$ l von dem bereitgestellten 20  $\mu$ M ADP gegeben und somit die Thrombozytenaggregation gestartet. 5 Minuten nach Zugabe des ADPs wurde die Messung beendet.

#### **4.4.2 Auswertung der Aggregationskurven**

Der Aggregometer ist mit einem Rechner verbunden, der mit Hilfe der Aggro-Link-Software (Firma Probe & Go Labordiagnostica, Endingen, Deutschland) die Lichttransmissionskurve aufzeichnet. In Abbildung 7 ist schematisch eine Lichttransmissionskurve dargestellt.

Aus dieser Kurve kann das Ausmaß der Thrombozytenaggregation ermittelt werden. Der vorausgegangene Nulllinienabgleich ermöglicht es, den Wert der Aggregation in Prozent Lichttransmission anzugeben. Hierbei entspricht die optische Dichte des PPPs einer 100%igen Lichttransmission und die optische Dichte des PRPs vor Induktion der Thrombozytenaggregation entspricht 0 %.

Bei der Auswertung der Messung wird sowohl der maximal erreichte Wert der Aggregation als auch die Aggregation 5 Minuten nach Zugabe des ADPs bestimmt. Der 5-Minuten-Wert spiegelt die finale Aggregatbildung wieder. Im Folgenden wird die finale Aggregation zur Beschreibung der residuellen Thrombozytenaggregation (=thrombozytäre Restaktivität unter antithrombozytärer Therapie) verwendet.



**Abbildung 7:** Lichttransmissionskurve. Der Nullabgleich zu Beginn der Aufzeichnung ermöglicht die Definition von 0 % und 100 % Lichttransmission. Die Lichttransmission ist ein Maßstab für die Thrombozytenaggregation.

#### 4.5 Nachverfolgung der Patienten

30 Tage nach der Herzkatheteruntersuchung und der Stentimplantation wurde bei den Studienpatienten eine Katamnese durchgeführt. Die Nachverfolgung wurde durch ein Telefoninterview oder durch Durchsicht der aktuellen Krankenakten durchgeführt. Kardiovaskuläre Ereignisse (Myokardinfarkt, kardiovaskulär bedingter Tod, ischämischer Insult) und Tod wurden erfasst. Darüber hinaus wurde die „Compliance“ bei der Medikamenteneinnahme erfragt.

Bezüglich des Ansprechverhaltens der Patienten auf Clopidogrel waren die Telefoninterviewer verblindet.

## 4.6 Statistische Auswertung und Entwicklung des Risikoscores

Bei der statistischen Analyse wurden stetige Variablen als Mittelwert  $\pm$  1 Standardabweichung angegeben. Nicht normalverteilte Werte wurden als Median und Quartilabstand wiedergegeben. Dichotome Variablen wurden in Prozent angegeben.

Die Studienpopulation wurde entsprechend ihrer RPA-Werte in 3 gleich große Subgruppen, die Tertiale 1-3, aufgeteilt.

Die unterschiedliche Verteilung der demographischen und klinischen Charakteristika in den Patienten-Subgruppen entsprechend des RPA-Wertes wurde in einer univariaten Analyse mithilfe des Chi-Quadrat-Tests analysiert.

Für die Entwicklung des Risikoscores wurden Variablen ausgewählt, die in der klinischen Routine leicht zu erheben sind. Als mögliche Variablen für den Risikoscore kamen folgende kardiovaskuläre Risikofaktoren in Betracht:

- Nikotinabusus
- Diabetes mellitus
- arterielle Hypertonie
- Niereninsuffizienz (Serumkreatinin-Wert  $>1,5$  mg/dl)
- Hypercholesterinämie
- eingeschränkte linksventrikuläre Pumpfunktion ( $<55$  % Auswurffraktion)
- Alter ( „Cut-off“-Wert von 65 Jahren)
- Geschlecht
- Akutes Koronarsyndrom
- aktuelle oder vorangegangene Komedikation mit Statinen
- 3-Gefäß-KHK

Sowohl die Zeitdifferenz zwischen Gabe der Initialdosis und der Messung als auch die Höhe der Initialdosis unterschieden sich in ihrem Verteilungsmuster nicht signifikant in den Patienten-Subgruppen entsprechend des RPA-Wertes



(=Tertiale) und wurden daher nicht in die weitere statistische Analyse aufgenommen.

Bei der statistischen Auswertung der Daten wurde zunächst eine multivariate logistische Regressionsanalyse durchgeführt, um unabhängige Prädiktoren für eine erhöhte residuelle Thrombozytenaktivität (entsprechend einem Wert >46,9 %) als abhängige Variable zu identifizieren.

Diejenigen Variablen, die in die multivariate Regressionsanalyse einbezogen wurden, wurden dichotom dargestellt.

Als Eingangskriterium für das endgültige Modell wurde für die Variablen ein p-Wert von <0,2 in der „Forward“ und „Backward“ logistischen Regression festgelegt.

Um zu beurteilen, ob die multiple logistische Regressionsanalyse eine für die Entwicklung des PREDICT-Scores angemessene statistische Methode ist, wurde der „Hosmer-Lemeshow-Test-for-goodness-of-fit“ durchgeführt. Nimmt der Hosmer-Lemeshow-Test Werte oberhalb eines festgelegten Signifikanzniveaus, üblicherweise  $p=0,05$  ein, kann davon ausgegangen werden, dass es sich bei dem angewandten logistischen Modell um eine für diese Fragestellung geeignete statistische Methode handelt.

Unter Einbeziehen der als statistisch signifikant erkannten unabhängigen Prädiktoren für eine erhöhte RPA wurde anschließend ein kumulativer Score mit einer Spannweite von 0-5 gebildet.

Um den prädiktiven Wert des Scores beurteilen zu können, wurde dieser dann auf das gesamte Patientenkollektiv angewandt, wobei zunächst die Verteilung der RPA-Werte in Abhängigkeit von der kumulativen Anzahl an Score-Variablen untersucht wurde. Anschließend wurde die Inzidenz einer erhöhten RPA in Abhängigkeit von der kumulativen Anzahl an Score-Variablen analysiert.

Um der unterschiedlich großen statistischen Signifikanz der Score-Variablen in der univariaten Analyse gerecht zu werden, wurde eine Gewichtung der einzelnen Score-Variablen vorgenommen. Die Score-Variablen wurden abhängig vom Signifikanzniveau mit den Faktoren 1, 2 oder 3 gewichtet (1:  $p<0,05$ ; 2:  $p<0,01$ ;

3:  $p < 0,001$ ). Auf diese Weise wurde ein Score mit einer Spannweite von 0-9 entwickelt.

Daraufhin wurde in einer binären logistischen Regressionsanalyse das Risiko für eine erhöhte RPA in Abhängigkeit von der kumulativen Anzahl an Score-Variablen (0-9) errechnet. Drei verschiedene Score-Niveaus (1-3, 4-6 und 7-9) wurden gebildet.

Unabhängige Variable war die erhöhte RPA, als abhängige Variable diente das Score-Niveau als kategoriale Variable.

Um den Einfluss verschiedener Faktoren auf die Prognose der Patienten und das Auftreten eines erneuten kardiovaskulären Ereignisses zu beurteilen, wurde nach Erhebung der Nachverfolgungsdaten eine „Cox-proportional-hazards-survival“-Regression durchgeführt. Hierbei wurden folgende relevanten Patientencharakteristika mit einbezogen:

- kardiovaskuläre Medikation einschließlich der Behandlung mit Statinen
- eingeschränkte linksventrikuläre Pumpfunktion ( $< 55\%$  Auswurffraktion)
- Alter
- Geschlecht
- Akutes Koronarsyndrom
- Diabetes mellitus
- Nikotinabusus
- Niereninsuffizienz (Serumkreatinin-Wert  $> 1,5$  mg/dl)
- Schweregrad der KHK
- Art der implantierten Stents
- RPA-Wert eingestuft nach Tertialen

Als Signifikanzniveau wurde ein p-Wert von  $< 0,05$  festgelegt. Die statistisch signifikanten Variablen wurden in einer „Forward“ und „Backward“ Regressionsanalyse ermittelt und dienen als Prädiktoren für das Auftreten eines erneuten kardiovaskulären Ereignisses.

Alle statistischen Berechnungen und Auswertungen wurden mit Hilfe der Software SPSS 13 (Firma SPSS Inc., Chicago, USA) erstellt.

## 5 Ergebnisse

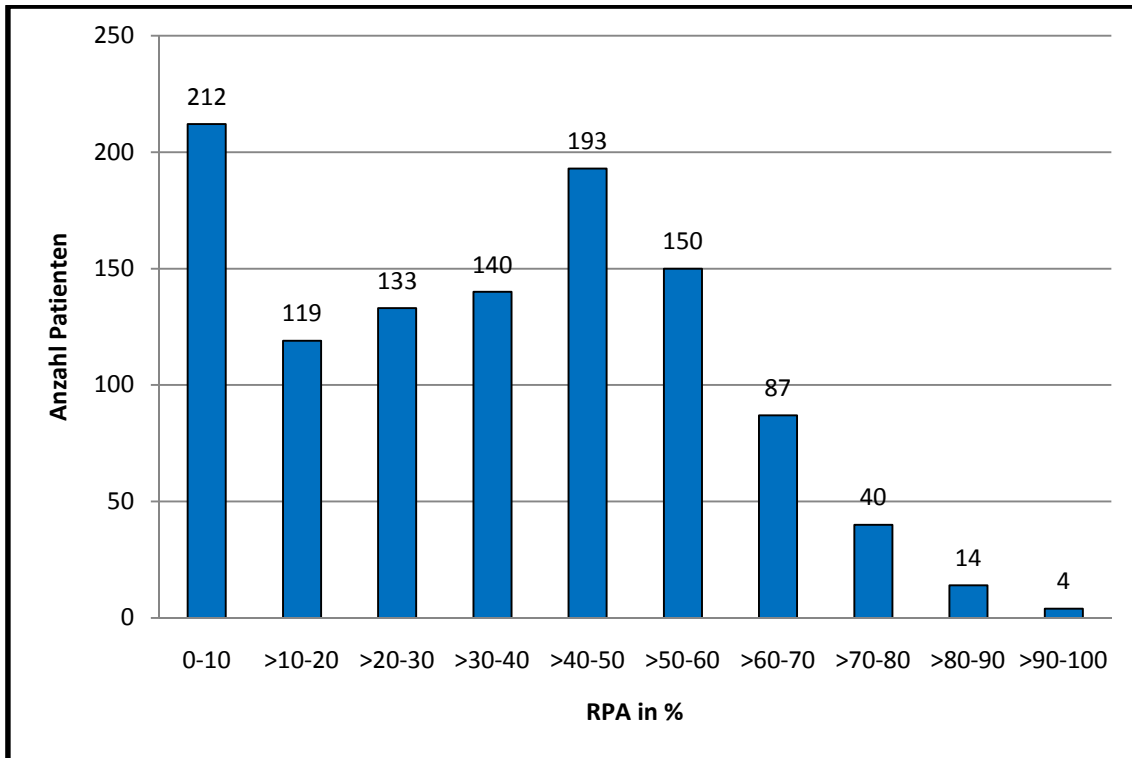
Im Folgenden werden die Ergebnisse aus der aggregometrischen Messung erläutert und in Bezug zum Patientenkollektiv gesetzt.

### 5.1 Aggregationsverlauf und residuelle Thrombozytenaktivität

Das Ausmaß der Plättchenaggregation nach einer Stimulierung mit 20  $\mu\text{mol/l}$  ADP wurde mit Hilfe eines Lumi-Aggregometers mit Aggro-Link-Software (Firma Probe & Go Labordiagnostica, Endingen, Deutschland) bestimmt, wobei die turbodimetrische Methode angewandt wurde. Die RPA wurde definiert als das prozentuale Ausmaß der Thrombozytenaggregation 5 Minuten nach Induktion der Aggregation durch Zugabe von ADP (Endkonzentration 20  $\mu\text{mol/l}$ ). Dieser Wert lässt sich aus den Aggregationskurven ermitteln (siehe Abbildung 7 im Kapitel „Material, Methoden und Patienten“).

Die Spanne der RPA-Werte der Studienpopulation lag zwischen 0 % und 97,9 % (Median: 36,3 %, Quartilabstand: 35,1)

Um die Verteilung der RPA-Werte zu veranschaulichen, wurden Einzelwerte ungefähr gleicher Größenordnung in Klassen zusammengefasst. In Abbildung 8 wird die Häufigkeitsverteilung der klassifizierten RPA-Werte graphisch in einem Histogramm dargestellt.



**Abbildung 8:**Verteilung der RPA-Werte in der Studienpopulation

Die Studienpopulation wurde entsprechend ihrer RPA-Werte in 3 gleichgroße Subgruppen, die Tertiale 1-3, aufgeteilt:

- Tertial 1: Das Patiententertial mit den niedrigsten RPA-Werten
- Tertial 2: Das Patiententertial mit RPA-Werten im mittleren Bereich
- Tertial 3 : Das Patiententertial mit den höchsten RPA-Werten

Entsprechend dieser Einteilung konnte die Grenze zum Tertial 3 bei einem RPA-Wert von 46,9 % und die Grenze zwischen Tertial 1 und 2 bei einem RPA-Wert von 23 % definiert werden.

## 5.2 Demographische und klinische Charakteristika der Studienpopulation

In die vorliegende Analyse wurden konsekutiv 1092 Patienten eingeschlossen, die wegen einer symptomatischen koronaren Herzkrankheit mit einer koronaren

Stentimplantation behandelt wurden.

51,6 % der Studienpatienten (n=563) wurden wegen eines ACS behandelt. Von diesen Patienten litten 225 (20,6 %) an einem Nicht ST-Hebungsinfarkt. 193 der Patienten mit ACS (17,7 %) erlitten einen ST-Hebungsinfarkt. Etwa 40 % der STEMI-Patienten (entsprechend einem Anteil von 7,1 % am Gesamtkollektiv) wurden zusätzlich zu der dualen antithrombozytären Therapie mit Clopidogrel und ASS mit einem GPIIb-IIIa-Antagonisten behandelt und zu einem späteren Zeitpunkt der RPA-Messung unterzogen (5 Tage nach Gabe der Clopidogrel-Initialdosis).

Es konnte kein signifikanter Unterschied im Ausmaß der RPA zwischen den Patienten, die lediglich eine duale antithrombozytäre Therapie erhielten, und denjenigen Patienten, die zusätzlich mit einem GPIIb-IIIa-Antagonisten behandelt wurden, festgestellt werden (Median: 33 %, Quartilabstand: 34,5 versus Median: 37 %, Quartilabstand: 35,5; p=0,61).

Ein Drittel der Studienpatienten (33,2 %) war an einem Diabetes mellitus vom Typ II erkrankt; 37,5 % der Diabetiker, entsprechend einem Anteil von 15,8 % an der gesamten Studienpopulation, waren insulinabhängig.

Bei 72,6 % der Studienpatienten wurden unbeschichtete Stents implantiert, nur 18,9 % wurden mit beschichteten Stents behandelt und bei 8,5 % der Patienten kamen sowohl beschichtete als auch unbeschichtete Stents zum Einsatz.

Der Median der RPA lag bei 36,3 % mit einem Quartilabstand von 35,1.

Bei der Mehrzahl der Patienten wurde die RPA 24 Stunden nach Gabe der Clopidogrel-Initialdosis bestimmt (Median: 24,8 h, Quartilabstand: 21,9).

Die demographischen und klinischen Charakteristika der Patienten sind in Tabelle 3 dargestellt.

**Tabelle 3:** Demographische und klinische Charakteristika der Studienpopulation

Variable	Patienten (n=1092)
Geschlecht, m/w (%)	806 / 286 (73,8 / 26,2)
Alter [Jahre] <sup>1</sup>	67,5 ± 10,8
Alter >65 Jahre (%)	675 (61,8)
Body Mass Index <sup>2</sup>	27,3 (5,2)
Akutes Koronarsyndrom (%)	564 (51,7)
STEMI (%)	193 (17,7)
NSTEMI (%)	225 (20,6)
Linksventrikuläre Funktion (%)	
Auswurffraktion 45-55 %	239 (21,9)
Auswurffraktion 35-45 %	183 (16,8)
Auswurffraktion <35 %	107 (9,8)
Arterielle Hypertonie (%)	876 (80,2)
Hyperlipidämie (%)	641 (58,7)
Diabetes mellitus (%)	363 (33,2)
Insulinabhängig (%)	137 (15,8)
Nikotinabusus (%)	425 (38,9)
Mehrgefäß-KHK (%)	816 (74,9)
Serumkreatinin [mg/dl] <sup>2</sup>	1,1 (0,4)
Niereninsuffizienz (Serumkreatinin >1,5 mg/dl) (%)	207 (19,0)
Medikation (%)	
Statine	953 (87,4)
ACE-Hemmer	876 (80,6)
Angiotensin-Rezeptor-Blocker	139 (12,8)
β-Blocker	1001 (92,1)
Myokardinfarkt in der Vorgeschichte (%)	222 (27,4)
Stents (%)	
unbeschichtet	793 (72,6)
beschichtet	206 (18,9)
beschichtet und unbeschichtet	93 (8,5)
Medikamentenbeschichtung der beschichteten Stents (%)	
Sirolimus	42 (3,8)
Tacrolimus	98 (9,0)
Zotarolimus	162 (14,8)
Zeitdifferenz zwischen ID und Aggregometrie /h <sup>2</sup>	24,8 (21,9)
<sup>1</sup> Mittelwert ± Standardabweichung	<sup>2</sup> Median (Quartilabstand)      ID=Initialdosis

### **5.3 Univariate Analyse der demographischen und klinischen Charakteristika**

Das Patientenkollektiv wurde entsprechend der Höhe der RPA in 3 gleich große Gruppen, die Tertiale 1-3, aufgeteilt, wobei das Tertial 3 die Patienten mit den höchsten RPA-Werten umfasst.

In der univariaten Analyse der klinischen und demographischen Charakteristika wurde untersucht, ob es Patientencharakteristika gibt, deren Auftreten sich statistisch signifikant zwischen den verschiedenen Tertialen unterscheidet.

Tabelle 4 zeigt die Charakteristika der Patienten entsprechend ihrer Zugehörigkeit zu den Tertialen. Mittels Chi-Quadrat-Test wurde der p-Wert für Tertial 3 versus Tertiale 1+2 errechnet.

Das Patientenkollektiv im Tertial 3 war signifikant älter ( $p=0,02$ ), litt häufiger an Diabetes mellitus ( $p=0,001$ ) und Niereninsuffizienz ( $p=0,001$ ), hatte eine geringere linksventrikuläre Funktion (LVF) ( $p<0,001$ ) und war häufiger betroffen von einem ACS ( $p=0,03$ ) im Vergleich zu Patienten, deren RPA sich in den Tertialen 1 und 2 bewegte.

Die Zeitdifferenz zwischen Gabe der Initialdosis und der Thrombozytenfunktionsmessung unterschied sich nicht signifikant zwischen den Tertialen. Ebenso wenig konnten signifikante Unterschiede zwischen den Tertialen bezüglich der verschiedenen implantierten Stenttypen (beschichtete versus unbeschichtete Stents), der Anzahl der implantierten Stents und der verschiedenen Untergruppen der medikamentös beschichteten Stents beobachtet werden.



**Tabelle 4:** Demographische und klinische Charakteristika der Studienpopulation entsprechend der residuellen Plättchenaktivität

Variablen	Tertiale der residuellen Plättchenaktivität			p für 3 vs 1+2
	1	2	3	
Alter >65 Jahre [%]	55,5	63,2	66,8	0,02
Geschlecht, m/w [%]	74,2/25,8	73,6/26,4	73,6/26,4	0,94
Diabetes mellitus [%]	25,8	34,1	39,8	0,001
Arterielle Hypertonie [%]	79,1	82,1	79,4	0,63
Niereninsuffizienz [%]	15,7	16,5	24,7	0,001
Nikotinabusus [%]	40,4	37,9	38,5	0,83
Hyperlipidämie [%]	59,9	61,3	54,9	0,08
Akutes Koronarsyndrom [%]	49,2	42,8	57,2	0,01
Eingeschränkte LVF [%]	43,7	44,2	58	<0,001
3-Gefäß-KHK [%]	37,9	44,9	43,5	0,52
Medikation mit Statinen [%]	87,3	89,3	85,4	0,18
Initialdosis				
600 mg [%]	83,4	84,1	85,1	0,61
300 mg [%]	16,6	15,9	14,9	
Unbeschichtete/beschichtete Stents [%]	78,2/21,8	79,3/20,7	79,2/20,8	0,93
Anzahl Stents 1/2/3/4/≥5 [%]	69,8/22,5/5,2/2,2/0,3	68,1/21,4/7,7/2,2/0,5	63,5/26,2/6,6/2,8/0,8	0,63
Beschichtung				
Sirolimus [%]	4,4	3,3	3,9	0,52
Tacrolimus [%]	8	8,2	10,8	
Zotarolimus [%]	16,2	15,1	13,3	
Zeitdifferenz zwischen ID und Aggregometrie [h] <sup>2</sup>	24,8	25,3	24,7	0,83
<sup>1</sup> Mittelwert ±Standardabweichung <sup>2</sup> Median (Quartilabstand)      ID=Initialdosis				

## 5.4 Multivariate logistische Regressionsanalyse

In die logistische Regressionsanalyse wurden in der Literatur diskutierte und in der univariaten Analyse signifikante Einflussfaktoren für den Grad der thrombozytären Restaktivität unter dualer Plättchenhemmung einbezogen und dienten als unabhängige Variablen für eine erhöhte RPA (>46,9 %).

Dementsprechend gingen folgende Faktoren in die multivariate logistische Regressionsanalyse ein:

- Alter >65 Jahre
- Geschlecht
- Diabetes mellitus
- Arterielle Hypertonie
- Niereninsuffizienz (Serumkreatinin >1,5 mg/dl)
- Nikotinabusus
- Hypercholesterinämie
- Akutes Koronarsyndrom
- eingeschränkte linksventrikuläre Funktion (<55 % Auswurffraktion)
- 3-Gefäß-KHK
- Komedikation mit Statinen

Als Signifikanzniveau wurde ein p-Wert von <0,2 festgelegt. Dies wurde als Eingangskriterium für das endgültige Modell definiert.

Mit Hilfe der „Forward“ und „Backward“ logistischen Regression wurden folgende 5 Faktoren statistisch signifikant als unabhängige Prädiktoren einer erhöhten RPA ermittelt und zur Bildung des Risikoscores herangezogen:

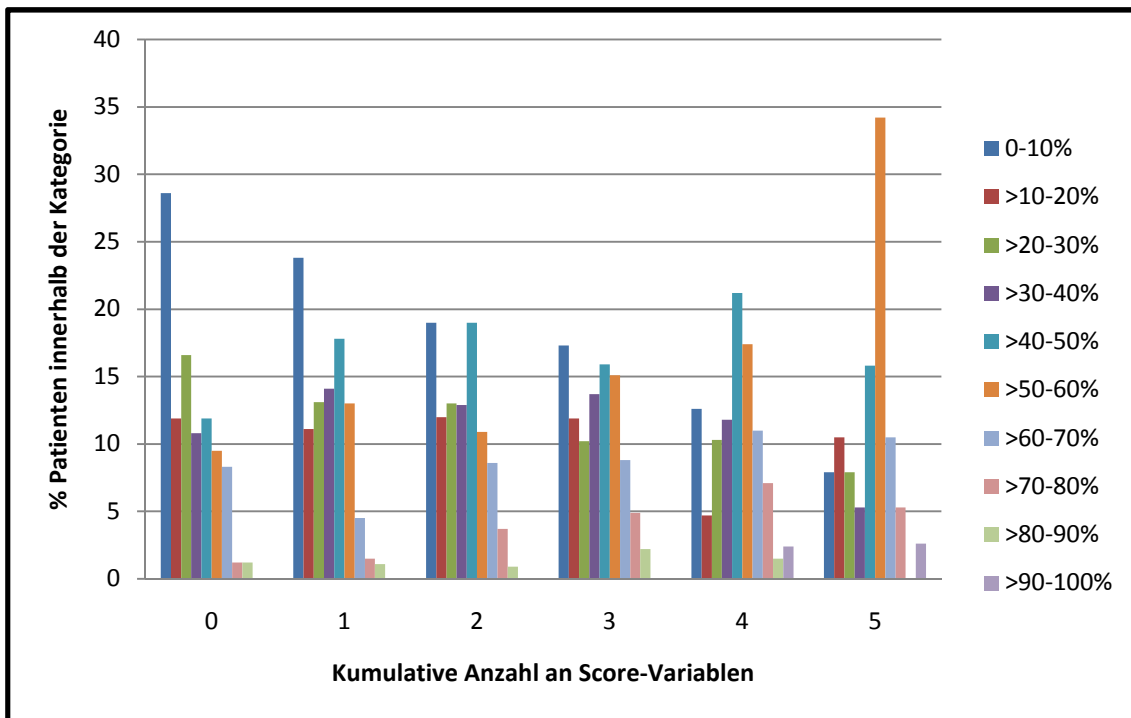
- Alter >65 Jahre
- Diabetes mellitus
- eingeschränkte linksventrikuläre Funktion (<55 % Auswurffraktion)
- Niereninsuffizienz (Serumkreatinin >1,5 mg/dl)
- Akutes Koronarsyndrom

Der „Hosmer-Lemeshow-Test-for-goodness-of-fit“ nahm hierbei einen Wert von 0,997 ein.

### 5.5 Anwendung des kumulativen Risikoscores auf das Patientenkollektiv

Der kumulative Riskoscore wurde auf das gesamte Patientenkollektiv angewandt, um seinen prädiktiven Wert für eine erhöhte RPA zu analysieren. Hierbei wurde zunächst die Verteilung der RPA-Werte in Abhängigkeit von der kumulativen Anzahl an Score-Variablen untersucht.

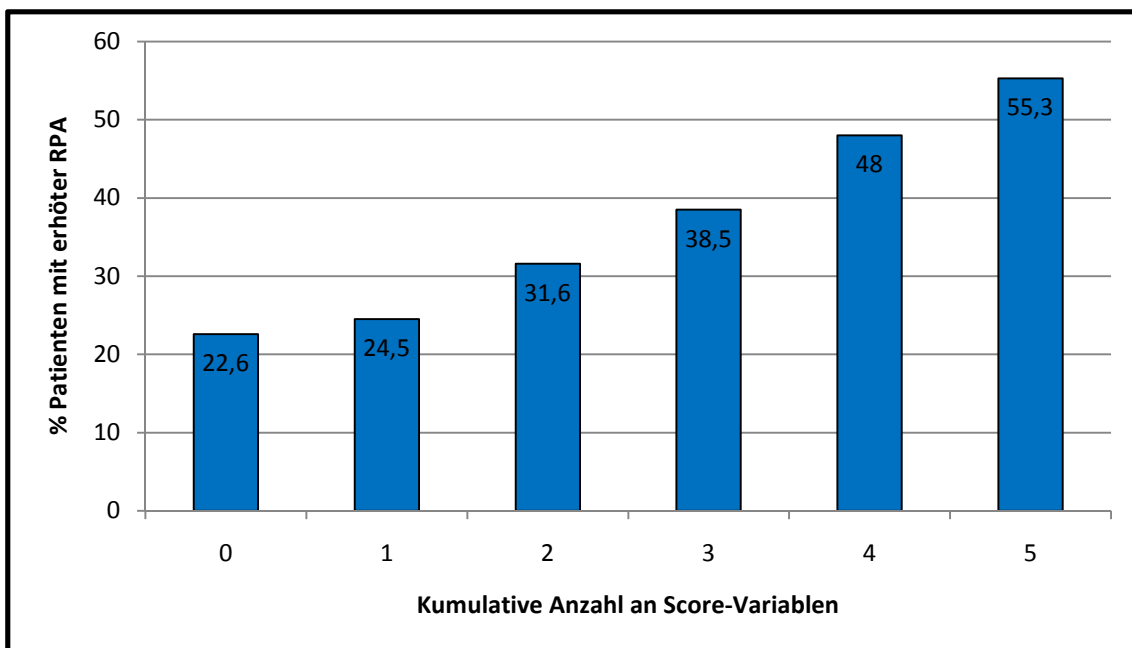
Man konnte feststellen, dass der Anteil an Patienten mit erhöhter RPA mit steigendem Score-Niveau der Patienten zunahm. Es konnte dementsprechend mit steigender Anzahl an Score-Variablen eine Rechtsverschiebung der RPA-Werte beobachtet werden (siehe Abbildung 9).



**Abbildung 9:** Prozentuale Verteilung der RPA-Werte in Perzentilen abhängig von der kumulativen Anzahl an Score-Variablen. Die Abbildungslegende ordnet den verschiedenen Balken im Diagramm die entsprechenden RPA-Perzentilen zu. Erkennbar ist eine Rechtsverschiebung der RPA-Werte mit steigendem Score-Niveau.

Desweiteren wurde die Inzidenz einer erhöhten RPA (RPA >46,9 %, d.h. im Tertial 3) in Abhängigkeit von der kumulativen Anzahl an Score-Variablen analysiert.

Mit steigendem Score-Niveau konnte ein Anstieg in der Inzidenz einer erhöhten RPA beobachtet werden (siehe Abbildung 10).



**Abbildung 10:** Inzidenz einer erhöhten RPA (RPA >46,9 %) in Abhängigkeit von der Anzahl an Score-Variablen.

## 5.6 Gewichtung der Score-Variablen

Um der unterschiedlich großen statistischen Signifikanz der Score-Variablen in der univariaten Analyse gerecht zu werden, wurde eine Gewichtung der einzelnen Score-Variablen vorgenommen. Die Score-Variablen wurden abhängig vom Signifikanzniveau mit den Faktoren 1, 2 oder 3 gewichtet (1:  $p < 0,05$ ; 2:  $p < 0,01$ ; 3:  $p < 0,001$ ). Im Einzelnen wurde das ACS und das Alter >65 Jahre mit dem Faktor 1 gewichtet. Bei Vorliegen eines Diabetes mellitus sowie einer Niereninsuffizienz wurde der Faktor 2 zugeordnet. Eine eingeschränkte LVF wurde mit dem Faktor 3 gewichtet. Auf diese Weise wurde ein Score mit einer Spannweite von 0-9 entwickelt.

In einer binären logistischen Regressionsanalyse wurde das Risiko für eine erhöhte RPA (RPA >46,9 %, d.h. im Tertial 3) in Abhängigkeit von der kumulativen Anzahl an Score Variablen errechnet.

Unabhängige Variable war die erhöhte RPA, als abhängige Variable diente die Anzahl an Score-Variablen.

Das Risiko einer erhöhten RPA wurde für einen Score-Wert von 7-9 im Vergleich zu einem Score-Wert von 0 mit einer Odds Ratio von 3,3 (95%-Konfidenzintervall: 1,8-6,0;  $p < 0,001$ ) als deutlich erhöht berechnet (siehe Tabelle 5).

**Tabelle 5:** Binäre logistische Regression für die Wahrscheinlichkeit einer erhöhten RPA in Abhängigkeit von der kumulativen Anzahl an Score-Variablen.

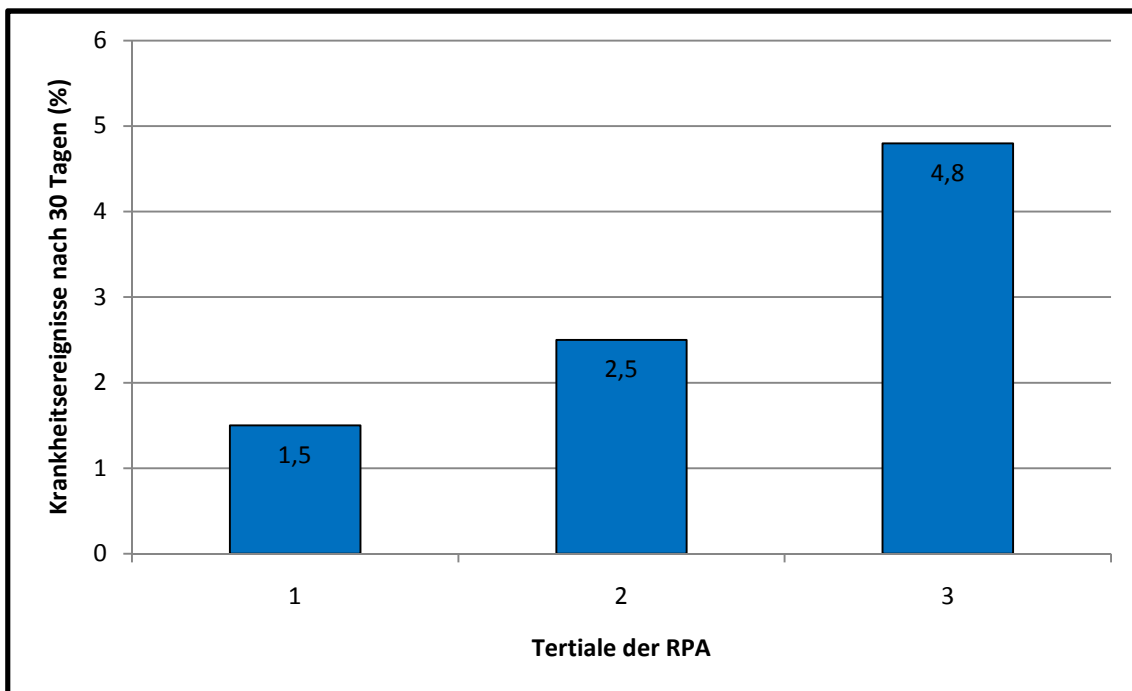
PREDICT-Score	ODDS Ratio (im Vergleich zu einem Score von 0)	95%-KI	Signifikanz
1-3	1,21	0,7-2,1	0,49
4-6	2	1,17-3,5	0,01
7-9	3,3	1,8-6,0	<0,001

## 5.7 Nachverfolgung der Patienten

30 Tage nach Bestimmung der RPA wurde bei 950 der untersuchten Patienten eine Nachverfolgung durchgeführt. Dies entspricht einem Anteil von 87 %. Zwischen denjenigen Patienten, die in die Nachverfolgung gingen und denjenigen, die nicht nachverfolgt werden konnten, bestand kein signifikanter Unterschied in der RPA (Median der RPA 36 % versus 40 %;  $p=0,23$ ). Die nachverfolgten Patienten waren gleichmäßig auf die Tertiale verteilt.

Innerhalb von 30 Tagen erlitten 28 Patienten (2,9 % der nachverfolgten Patienten) ein erneutes Krankheitsereignis: 14 Patienten starben, 10 Patienten erlitten einen nichttödlichen Myokardinfarkt und 4 Patienten entwickelten einen ischämischen Insult.

Mit zunehmender RPA konnte ein steigender Anteil an Patienten mit einem kardiovaskulären Ereignis im Nachverfolgungszeitraum beobachtet werden. So befanden sich im Tertial 1 lediglich 5 Patienten (1,5 %), die erneut ein kardiovaskuläres Ereignis erlitten, wohingegen im Tertial 2 bereits 8 Patienten (2,5 %) betroffen waren. Im Tertial 3 erlitten 15 Patienten (4,8 %) ein erneutes Ereignis ( $p < 0,05$ ) (siehe Abbildung 11).



**Abbildung 11:** Inzidenz erneuter Krankheitsereignisse nach 30 Tagen abhängig von den Tertialen der RPA.

Von den Patienten mit einem erneuten kardiovaskulären Ereignis im Nachverfolgungszeitraum hatten 77,8 % einen Score-Wert von  $\geq 5$ . Die Patienten ohne erneutes Ereignis wiesen nur zu 32,4 % einen Score-Wert von  $\geq 5$  auf ( $p < 0,001$ ).

Dies zeigt, dass die Rate an erneuten kardiovaskulären Ereignissen mit der Höhe des Score-Wertes einhergeht.

Darüber hinaus wurde eine „Cox-proportional-hazards-survival“-Regression unter Einbeziehung wichtiger prognostischer Faktoren durchgeführt, um deren Einfluss auf das Auftreten eines erneuten Krankheitsereignisses zu beurteilen.

Als Signifikanzniveau wurde ein p-Wert von  $<0,05$  festgelegt. Die in Tertiale unterteilte RPA erwies sich dabei in der „Forward“ und „Backward“-Regression als unabhängiger Prädiktor für das Auftreten eines erneuten Krankheitsereignisses (Hazard Ratio: 1,71, 95%-Konfidenzintervall: 1,03-2,84,  $p=0,037$ ). Des Weiteren wurden die stark reduzierte LVF, Diabetes mellitus und eine fehlende Behandlung mit  $\beta$ -Blockern und Statinen mit erneuten kardiovaskulären Ereignissen in Zusammenhang gebracht.

## 6 Diskussion

Ziel der vorliegenden Studie war die Entwicklung eines Risikoscores, mit dessen Hilfe Patienten, die mit einer hohen Wahrscheinlichkeit nicht ausreichend durch die duale antithrombozytäre Therapie, bestehend aus Clopidogrel und ASS, geschützt sind, erkannt werden können.

Es konnte gezeigt werden, dass verschiedene klinische Variablen mit einer erhöhten RPA assoziiert sind. Dazu zählen das Alter >65 Jahre, das ACS, das Vorhandensein eines Diabetes mellitus, die Niereninsuffizienz und die eingeschränkte linksventrikuläre Pumpfunktion mit einer Auswurfraction <55 %. Auf Basis dieser klinischen Faktoren konnte ein Risikoscore (PREDICT Score) erstellt werden, der als Werkzeug dient, um die RPA nach koronarer Stentimplantation abzuschätzen. Es konnte gezeigt werden, dass Patienten mit einem Score-Niveau von 7-9 ein 3,3-fach höheres Risiko haben, postinterventionell eine erhöhte RPA aufzuweisen, als Patienten mit einem Score-Niveau von 0. Zugleich korreliert der Risikoscore gut mit dem Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse im weiteren Verlauf von 30 Tagen. Der PREDICT-Score trägt dazu bei das atherothrombotische Risiko individuell einzustufen und stellt auf diese Weise ein Werkzeug dar, um Patienten zu identifizieren, die von einer alternativen plättchenhemmenden Therapie prognostisch profitieren können.

Die duale antithrombozytäre Therapie bestehend aus Clopidogrel und ASS ist derzeit das gängige therapeutische Vorgehen bei Patienten nach koronarer Stentimplantation (70, 90) und reduziert nachweislich die Häufigkeit kardiovaskulärer Ereignisse nach einer Koronarintervention. Trotz dieser Therapie kommt es aber bei 6-9 % der Patienten zu kardiovaskulären Ereignissen im längerfristigen Verlauf (15, 106).

Verschiedene Studien konnten eine beträchtliche Variabilität im Ansprechen auf Clopidogrel zeigen und prägten den Begriff Clopidogrel-Resistenz als fehlende oder nicht ausreichende pharmakologische Wirkung des Medikaments (41).

In der Literatur wurden verschiedene Faktoren mit dem Auftreten einer erhöhten thombozytären Restaktivität unter dualer antithrombozytärer Therapie in Zu-



sammenhang gebracht. Extrinsische Faktoren (z.B. mangelnde „Compliance“, Unterdosierung oder Medikamenteninteraktionen) wie auch intrinsische Mechanismen (z.B. Polymorphismen in Genen, die für bestimmte Cytochrome kodieren oder metabolische Störungen (46)) gelten als Faktoren, die das Ansprechen auf die duale antithrombozytäre Therapie beeinflussen. Eine verringerte antithrombozytäre Wirksamkeit konnte auch bei Vorliegen eines Diabetes mellitus (40), eines ACS (44) und einer chronischen Niereninsuffizienz (10, 65) beobachtet werden.

Demnach gehen die in der vorliegenden Studie als Score-Variablen identifizierten Faktoren mit den Ergebnissen o.g. vorausgegangener Studien einher, die das Phänomen der Clopidogrel-Resistenz und deren mögliche Ursachen untersuchten.

Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass der PREDICT-Score gut mit den messtechnisch ermittelten RPA-Werten in einer großen unselektierten Patientenkohorte übereinstimmt.

Allerdings ist ein Scoring-System wie der PREDICT-Score generell anfällig für relevante andere Variablen, die nicht Eingang in den Score fanden.

Bei dem Ansprechen auf die duale antithrombozytäre Therapie mit Clopidogrel und ASS handelt es sich um ein multifaktoriell bedingtes Phänomen (4, 42), das neben verschiedenen Einflussgrößen auch von prozedurale Faktoren während der Koronarintervention beeinflusst wird. Zudem weisen auch Kohorten von gesunden Menschen eine hohe interindividuelle Variabilität im Ansprechen auf Clopidogrel auf (87), was neben den kardiovaskulären Risikofaktoren weitere Einflussgrößen nahelegt. Dies zeigt, dass auch andere, im PREDICT-Score nicht berücksichtigte Faktoren sich auf das Ausmaß der RPA auswirken können.

Die Aussagekraft des PREDICT-Scores kann durch Berücksichtigung dieser Erkenntnisse gesteigert werden. So gelang es Geisler et al., die Vorhersagekraft des PREDICT-Scores durch Einbeziehen des CYP2C19\*2-Polymorphismus als zusätzliche genetische Variable unter den bereits bekannten, o.g. nicht-genetischen Variablen wesentlich zu bessern (46).

In der vorliegenden Studie kam zur messtechnischen Bestimmung der antiaggregatorischen Wirksamkeit von Clopidogrel die ADP-induzierte Plättchenaggregometrie zum Einsatz. Diese Methode wurde schon in vielen Studien zur Untersuchung der antithrombozytären Wirksamkeit von Clopidogrel angewandt und überzeugt aufgrund der schnellen Durchführbarkeit und der im Vergleich zu anderen Methoden relativ einfachen Handhabung (57). Es muss aber berücksichtigt werden, dass es sich bei dem PRP, welches bei dieser Methode zur Messung der RPA herangezogen wird, um ein artifizielles Milieu handelt, das nicht dem physiologischen Milieu der Thrombozyten entspricht. So fehlt es dem PRP an Erythrozyten und Leukozyten, die einen modulierenden Einfluss auf die Plättchenfunktion haben (16). Zur Induktion der Plättchenaggregation wurde ADP in einer hohen Konzentration von 20  $\mu\text{mol/l}$  dem Patientenplasma zugegeben, um die residuelle Plättchenaktivität zu bestimmen und nicht nur die rasch reversible Phase der Plättchenaggregation zu beobachten, die von geringeren ADP-Konzentrationen verursacht wird. Allerdings entspricht eine so hohe ADP-Konzentration nicht der physiologischen ADP-Konzentration, die typischerweise  $\leq 1 \mu\text{mol/l}$  beträgt (57).

Die Messung wurde frühestens 6 Stunden nach Gabe der Initialdosis durchgeführt. Verschiedene Studien belegen, dass bei einer Initialdosis von 600 mg nach einem Zeitraum von 6 Stunden die maximale antiaggregatorische Wirksamkeit von Clopidogrel erreicht ist (54, 75). Die Mehrzahl der Patienten wurde 24 h nach Gabe der Initialdosis gemessen. In einer zeitabhängigen Korrelation konnte kein Einfluss des Messzeitpunktes auf das Messergebnis festgestellt werden. Trotzdem muss bedacht werden, dass das Phänomen des verzögerten Ansprechens auf Clopidogrel in der Literatur beschrieben wurde (51). Es ist also möglich, dass sich eine initial hohe RPA im weiteren Verlauf auf niedrigere Werte verringert und somit verzögert ein besseres Ansprechen detektiert werden könnte.

In der Vergangenheit wurden sowohl prä- als auch postinterventionelle Messungen durchgeführt, um die Wirksamkeit von Clopidogrel zu bestimmen.

Jüngst konnte aber gezeigt werden, dass die alleinige postinterventionelle Bestimmung der Plättchenfunktion ausreicht, um Patienten mit einem erhöhten Risiko für erneute kardiovaskuläre Ereignisse zu identifizieren (26, 45, 49, 51, 53).

Darüber hinaus konnte nachgewiesen werden, dass die postinterventionelle Bestimmung der Plättchenaggregation einen guten Marker darstellt, um das thrombotische Risiko der Patienten, besonders dasjenige der subakuten Stentthrombose, einzuschätzen (84, 95).

Die Erfahrung vieler Studien zeigt, dass die ADP-induzierte Plättchenaggregometrie trotz ihrer Einschränkungen dazu geeignet ist, das Ausmaß der RPA zuverlässig zu bestimmen. Weiterhin stellt sie den Goldstandard zur Untersuchung der Wirksamkeit der antithrombozytären Therapie dar und ist am meisten evaluiert bezüglich der klinischen Wertigkeit.

Risikoscores werden aus Daten entwickelt, die in klinischen Studien oder Kohortenstudien gewonnen werden (88). Die Patientenpopulation unterliegt bestimmten Einschlusskriterien. In dieser Phase der Scoreentwicklung findet eine Selektion statt, die zu einem Unterschied zwischen der Studienpopulation und der Allgemeinheit der betroffenen Patienten führt. Im PREDICT-Score kamen nur folgende Ausschlusskriterien zum Tragen: Alter der betroffenen Patienten <18 Jahren und bekannte Thrombozytendysfunktion. Es kann also in diesem Fall von einer relativ unselektierten Patientenkohorte ausgegangen werden (88).

Klinische Risikoscores sollten bezüglich ihrer Diskriminierungsfähigkeit und ihrer Genauigkeit mit Methoden der Statistik überprüft werden (101). Mit Hilfe des Hosmer-Lemeshow-Tests wird die Adäquatheit des angewandten Modells beurteilt. Der in dieser Studie im Hosmer-Lemeshow-Test erreichte hohe Wert von 0,997 spricht dafür, dass es sich bei dem angewandten logistischen Modell um eine für diese Fragestellung geeignete statistische Methode handelt.

Reilly et al. befürworten, dass klinische Vorhersage-Richtlinien wie Risikoscores oder Algorithmen zur Risikostratifizierung einer formalen „Impact“-Analyse unterzogen werden, um festzustellen, ob ihre Anwendung im klinischen Alltag einen Einfluss auf die Prognose hat und falls dies zutrifft, ob dieser Einfluss positiv oder negativ ist (82). Sie empfehlen die Anwendung eines Risikoscores in der klinischen Routine nur, wenn dessen positive Auswirkungen auf die ärztliche Entscheidungsfindung in prospektiven Studien belegt werden konnte (82). Die klinische Relevanz, die sich aus der Anwendung des PREDICT-Scores ergibt, zeigt sich darin, dass im Nachverfolgungszeitraum ein Zusammenhang zwischen Höhe des Score-Niveaus und klinischer Prognose beobachtet werden konnte und gleichzeitig Patienten mit kardiovaskulären Ereignissen im weiteren Verlauf statistisch signifikant höhere Score-Niveaus erzielt hatten als Patienten ohne derartige Ereignisse. Dies spricht für einen positiven Einfluss des PREDICT-Scores auf die ärztliche Einschätzung des individuellen thrombotischen Risikos. Selbstverständlich muss aber der Zusammenhang zwischen residueller Plättchenaktivität und der anhand des PREDICT-Scores geschätzten klinischen Prognose in weiteren großen Studien evaluiert werden.

In der Vergangenheit wurden bereits verschiedene klinische Scoring-Systeme entwickelt, um das Risiko wiederkehrender Ereignisse bei kardiovaskulären Patienten einzuschätzen. Der TIMI-Risikoscore („Thrombolysis in Myocardial Infarction-Score“) untersuchte Prädiktoren zur Vorhersage erneuter kardiovaskulärer Ereignisse bei Patienten mit IAP, Nicht-ST-Hebungsinfarkten oder ST-Hebungsinfarkten (7, 73). Der TIMI-Risikoscore setzt sich aus folgenden 7 Variablen zusammen: Alter >65 Jahre, mindestens 3 kardiovaskuläre Risikofaktoren, eine vorausgegangene Koronarstenose von mindestens 50 %, eine ST-Hebung oder -Senkung im Aufnahme-EKG, mindestens 2 Episoden einer pekt-anginösen Beschwerdesymptomatik im Zeitraum von 24 Stunden vor der Hospitalisierung, die Therapie mit ASS in den vorausgegangenen 7 Tagen und erhöhte Laborparameter bezüglich kardialer Ischämie.

Das Patientenkollektiv, das untersucht wurde, um den TIMI-Risikoscore zu entwickeln, umfasst ausschließlich ACS-Patienten und unterscheidet sich somit

von dem des PREDICT-Scores, in das auch Patienten mit SAP einbezogen wurden. Aus diesem Grund können die Ergebnisse dieser beiden Scoring-Systeme nicht einfach aufeinander übertragen werden. Allerdings könnte eine Modifikation des PREDICT-Scores, in der nur Patienten mit ACS berücksichtigt werden, es ermöglichen, die beiden Risikoscores vergleichbar zu machen. Auf diese Weise könnte die prognostische Aussagekraft der RPA durch die Kombination mit bereits bewährten Prädiktoren für die kardiovaskuläre Prognose gestärkt werden.

Durch die Entwicklung des PREDICT-Scores ist es möglich geworden, die residuelle Plättchenaktivität unter dualer antithrombozytärer Therapie anhand von klinischen Parametern zuverlässig einzuschätzen.

Dies bedeutet einen großen Gewinn in der Behandlung von Patienten nach einer Koronarintervention. Da das verminderte Ansprechen auf Clopidogrel ein reales klinisches Problem darstellt, von dem aufgrund seiner hohen Prävalenz eine beträchtliche Anzahl an Patienten betroffen ist, ist es von großem Wert, anhand eines Risikoscores diejenigen Patienten identifizieren zu können, die durch die gängige Therapie mit großer Wahrscheinlichkeit nicht ausreichend geschützt sind. Da die messtechnische Bestimmung der thrombozytären Restaktivität von der labortechnischen Ausstattung der jeweiligen Kliniken abhängt und darüber hinaus einen großen personellen wie auch finanziellen Aufwand darstellt, ist es nicht überall möglich, die residuelle Plättchenaktivität labortechnisch zu bestimmen. Die alternative Anwendung des PREDICT-Scores ermöglicht es dennoch, eine Aussage über die wahrscheinliche Höhe der RPA zu treffen, um je nach Risikoprofil die antithrombozytäre Therapie individuell gestalten zu können.

Für Hochrisikopatienten, bei denen ein vermindertes Ansprechen auf die gängige duale antithrombozytäre Therapie wahrscheinlich ist, gibt es unterschiedliche Ansatzpunkte, um eine effektivere medikamentöse Thrombozytenaggregationshemmung zu erreichen:

Die ACC/AHA/SCAI-Leitlinien für PCI trugen schon 2006 der Erkenntnis Rechnung, dass ein verringertes Ansprechen auf Clopidogrel mit einer schlechteren Prognose assoziiert ist. Als Konsequenz empfahlen sie bei Patienten mit einem Hochrisikoprofil, bei denen eine subakute Stentthrombose letale Folgen hätte, eine Erhöhung der Erhaltungsdosis von 75 mg/d auf 150 mg/d bei messtechnischem Nachweis einer Plättchenhemmung <50 % (89). Verschiedene Studien konnten durch dieses Vorgehen eine vergrößerte antithrombozytäre Wirksamkeit belegen (3, 6, 11). Trotz dieser gesteigerten Medikamentenwirkung bestehen aber noch immer große interindividuelle Unterschiede im Ausmaß der erzielten plättchenhemmenden Wirkung und viele Patienten sind trotz Dosiserhöhung auf 150 mg/d weiterhin nicht ausreichend vor thrombotischen Komplikationen geschützt.

Ein weiterer Ansatz, die antithrombozytäre Wirksamkeit von Clopidogrel bei Risikopatienten zu steigern, besteht in der Erhöhung der Initialdosis.

In der ALBION-Studie wurden die antithrombozytären Effekte von Clopidogrel bei Gabe von 3 verschiedenen Initialdosen (300 mg, 600 mg und 900 mg) verglichen. Eine 900mg-Initialdosis zeigte in dieser Studie einen additiven antithrombozytären Effekt im Vergleich zu einer 600mg- bzw. 300mg-Initialdosis (72), was jedoch in verschiedenen anderen Studien nicht repliziert werden konnte (12, 80).

Jüngst untersuchten L'Allier et al., ob sich durch die zweifache Gabe einer Clopidogrel-Initialdosis von 600 mg im Abstand von 24 Stunden zusätzliche antithrombozytäre Effekte erzielen lassen (64). Sie stellten eine signifikant höhere Hemmung der Plättchenaggregation bei diesem Therapieregime im Vergleich zum Standardvorgehen mit einer einmaligen Initialdosis von 600 mg Clopidogrel fest ( $p < 0,0001$ ) (64).

Derzeit wird die Frage der optimalen Clopidogrel-Initialdosis in der CURRENT/OASIS-7-Studie („Clopidogrel Optimal Loading Dose Usage to Reduce Recurrent Events/Optimal Antiplatelet Strategy for Interventions“) untersucht.

Eine Alternative zu der bisherigen Therapie mit Clopidogrel und ASS stellen die neuen antithrombozytären Substanzen Prasugrel und AZD 6140 dar.

Prasugrel gehört wie Clopidogrel und Ticlopidin zu der Substanzklasse der Thienopyridine und inhibiert selektiv und irreversibel den P<sub>2</sub>Y<sub>12</sub>-Rezeptor. Prasugrel ist ein Pro-Pharmakon, das in der Leber über das CYP-P450-System aktiviert werden muss, um seine antithrombozytäre Wirkung entfalten zu können (81). Bei dem aktiven Metaboliten von Prasugrel handelt es sich, wie auch bei Clopidogrel, um einen Thioalkohol. Die maximale Plasmakonzentration an diesem aktiven Metabolit kann bereits 30 Minuten nach Gabe des Medikaments Prasugrel detektiert werden (18, 30, 31). In-vitro-Studien konnten zeigen, dass vor allem die Cytochrom-Enzyme 3A4 und 2B6 und in geringerem Ausmaß auch 2C9 und 2C19 an der Aktivierung von Prasugrel beteiligt sind (81). Allerdings ist die Aktivierung von Prasugrel nicht so spezifisch an bestimmte Cytochrome gebunden, wie es bei Clopidogrel der Fall ist: bei Inhibition des CYP3A4s, ist es möglich, dass die Aktivierung von Prasugrel ausschließlich über CYP2B6, 2C9 und 2C19 abläuft und die antithrombozytäre Wirksamkeit von Prasugrel nicht beeinträchtigt wird (30). Dies ist bedeutsam, da u.a. verschiedene Komedikationen zu einer Inhibition des CYP3A4s führen können. Im Gegensatz zu Clopidogrel, das bei der hepatischen Biotransformation zu einem großen Teil in einen inaktiven Carbonsäuremetaboliten verstoffwechselt wird, ist die in-vivo-Erzeugung des aktiven Metaboliten von Prasugrel sehr effizient (94, 100). Verschiedene Studien sehen in der effizienteren Generierung des aktiven Metaboliten bei Prasugrel im Vergleich zu Clopidogrel die Ursache für die größere antithrombozytäre Wirksamkeit von Prasugrel (94, 100).

Präklinische Studien deuteten auf eine 10-100fach höhere antithrombozytäre Potenz von Prasugrel im Vergleich zu Clopidogrel hin (59).

Dies konnte in ersten klinischen Phase-I/-II-Studien an Gesunden bestätigt werden, die Prasugrel eine 10-fach höhere antithrombozytäre Wirksamkeit verglichen mit Clopidogrel bescheinigten (9, 58, 69). Bemerkenswert war vor allem, dass in einer doppelblinden Vergleichsstudie mit Clopidogrel die Mehrzahl der

mit Prasugrel behandelten Patienten eine einheitliche Hemmung der Plättchenaggregation zeigten. Dahingegen konnten bei circa 50 % der Patienten, die Clopidogrel erhielten, moderate bis große Unterschiede im Ausmaß der Plättchenaggregationshemmung beobachtet werden (58). Eine von Brandt et al. an Gesunden durchgeführte „Crossover“-Studie zeigte eine signifikant höhere Plättchenhemmung durch Prasugrel mit einer Initialdosis von 60 mg (Plättchenhemmung:  $78,8 \pm 9,2$  %) im Vergleich zu Clopidogrel, das in einer initialen Dosierung von 300 mg verabreicht wurde (Plättchenhemmung:  $35,0 \pm 24,5$  %) (18).

Die erste an Patienten durchgeführte Studie mit Prasugrel war eine Phase-Ib-Dosisfindungsstudie an Patienten mit SAP. Prasugrel erzielte in dieser Studie sowohl unter einer Initialdosis von 40-60 mg als auch unter einer Erhaltungsdosis von 10-15 mg/d eine höhere Plättchenhemmung als Clopidogrel (Initialdosis: 300 mg, Erhaltungsdosis: 75 mg/d). Darüber hinaus wurden unter der Therapie mit Prasugrel signifikant weniger pharmakodynamische „Non-Responder“ beobachtet als unter Clopidogrel (60).

In der Jumbo-TIMI 26 Studie, einer Phase-II-Studie zur Beurteilung der Sicherheit von Prasugrel, konnten keine signifikanten Unterschiede in der Häufigkeit schwerwiegender Blutungen unter Therapie mit Prasugrel im Vergleich zu hochdosiertem Clopidogrel beobachtet werden (1,7 % versus 1,2 %; OR: 1,42; 95%-Konfidenzintervall: 0,4-5,08). Allerdings zeigte sich eine höhere Inzidenz leichter Blutungen in der Hochdosis-Prasugrel-Gruppe (Initialdosis: 60 mg/d; Erhaltungsdosis 15 mg/d) verglichen mit niedrigeren Prasugrel-Dosierungen oder Clopidogrel. Die Prasugrel-Gruppe zeichnete sich aber durch eine niedrigere Inzidenz kardiovaskulärer Komplikationen aus (104).

Die PRINCIPLE-TIMI 44 Studie zeigte, dass Prasugrel bei einer Initialdosis von 60 mg bei Patienten nach einer Koronarintervention größere antithrombozytäre Effekte erzielt als Clopidogrel (ID=600 mg). Auch in der Erhaltungstherapie zeigte sich Prasugrel in einer täglichen Dosierung von 10 mg der Therapie mit 150 mg/d Clopidogrel bezüglich der antithrombozytären Wirksamkeit überlegen (105).



Die Ergebnisse dieser Studien dienten als Grundlage für eine große klinische Phase-III-Studie zur Untersuchung der Sicherheit und Wirksamkeit von Prasugrel. Diese Studie, die TRITON-TIMI 38-Studie, konnte nachweisen, dass sowohl die Initial- als auch die Erhaltungsdosis von Prasugrel Clopidogrel bezüglich der Verhinderung kardiovaskulärer ischämischer Ereignisse überlegen sind. Unter Therapie mit Prasugrel wurde überwiegend in der Erhaltungsphase eine höhere Blutungsrate beobachtet. Ansätze zur Verringerung des erhöhten Blutungsrisikos sollten sich deshalb auf die Erhaltungsdosis konzentrieren, beispielsweise durch Reduktion der Erhaltungsdosis bei Patientensubgruppen mit einem erhöhten Blutungsrisiko. Dies betrifft insbesondere ältere Patienten oder solche mit einem niedrigeren Body-Mass-Index (BMI) (8).

Aufgrund des höheren Blutungsrisikos unter Prasugrel verglichen mit Clopidogrel sollte auf die etablierte Behandlung mit Clopidogrel zugunsten von Prasugrel nur verzichtet werden, wenn eine Ineffizienz der Clopidogreltherapie anzunehmen ist. Dies kann mit Hilfe des PREDICT-Scores zuverlässig eingeschätzt werden.

Die neue Substanz AZD6140 ist ein oral anwendbarer reversibler Inhibitor des  $P_2Y_{12}$ -Rezeptors (96). AZD6140 gehört nicht zu der Substanzklasse der Thienopyridine, sondern ist vom ATP abgeleitet und ist Teil einer neuen Substanzklasse antithrombozytärer Medikamente, den Cyclopentyltriazolopyrimidinen (56). AZD6140 ist ein reversibler Inhibitor des  $P_2Y_{12}$ -Rezeptors und ist im Gegensatz zu den Thienopyridinen ohne metabolische Biotransformation wirksam. Bei gesunden Probanden konnte 2 Stunden nach Einmalgabe einer Dosis von 100-400 mg AZD6140 eine fast komplette Hemmung der Plättchenaggregation festgestellt werden (78). Gleiches wurde bei Patienten mit Atherosklerose beobachtet. In einer täglichen Dosierung zwischen 200 mg/d und 400 mg/d konnte bei AZD6140 im Vergleich zu 75 mg/d Clopidogrel eine höhere Plättchenaggregationshemmung nachgewiesen werden (78).

Von großer klinischer Bedeutung ist der rasche Wirkungsabfall von AZD6140 nach Absetzen der Therapie: bereits 24 Stunden nach Einnahme der letzten

Dosis ist die Wirkung von AZD6140 deutlich verringert (56). Im Falle von dringlichen Operationen, die eine adäquate Thrombozytenaggregation erforderlich machen, hat eine Therapie mit AZD6140 Vorteile gegenüber Clopidogrel. Nach Absetzen von Clopidogrel ist erst nach 5-8 Tagen mit einer Normalisierung der Thrombozytenaggregation zu rechnen (78). Storey et al. verglichen die anti-thrombozytäre Wirksamkeit von AZD6140 mit der von Clopidogrel bei Patienten mit NSTEMI. Sie stellten fest, dass AZD6140 sowohl in einer Dosierung von zweimal täglich 90 mg als auch zweimal täglich 180 mg dem Standardvorgehen mit 75 mg/d Clopidogrel überlegen ist und eine höhere Plättchenaggregationshemmung erzielt. Darüber hinaus fanden sie, dass AZD6140 bei mit Clopidogrel vorbehandelten Patienten eine weitere Plättchenaggregationshemmung erzielt (92).

In der Disperse2-Studie wird AZD6140 bezüglich Sicherheit und Wirksamkeit mit Clopidogrel verglichen. In dieser großen multizentrischen Studie werden Patienten mit ACS und NSTEMI untersucht. Erste Ergebnisse wurden im Juli 2007 veröffentlicht und legten dar, dass die Zahl der Patienten mit einem erneuten Herzinfarkt nach erlittenem ACS in der AZD6140-Gruppe statistisch signifikant geringer war ( $p=0,06$ ). Ernsthafte Blutungskomplikationen traten unter AZD6140 nicht häufiger auf als unter Clopidogrel (20).

Bei AZD6140 handelt es sich um eine Substanz mit einem viel versprechenden antiaggregatorischen Potential. Weitere klinische Studien müssen abgewartet werden, um die Bedeutung von AZD6140 in der antithrombozytären Therapie besser einschätzen zu können.

Cangrelor ist ebenfalls ein reversibler kurzwirksamer Inhibitor der Plättchenaggregation und gehört nicht zu den Thienopyridinen (93). Cangrelor wirkt als direkter selektiver Antagonist am  $P_2Y_{12}$ -Rezeptor und bedarf keiner metabolischen Aktivierung (93). Im Gegensatz zu AZD6140 wird Cangrelor intravenös verabreicht (93).

In einer groß angelegten klinischen Phase-II-Studie untersuchten Greenbaum et al. die Sicherheit und Pharmakodynamik von Cangrelor an Patienten, die sich

einer PTCA unterzogen, und verglichen sie mit Abciximab und Placebo (48). Es konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede in der Blutungshäufigkeit sowohl bei Cangrelor und Placebo als auch bei Cangrelor und Abciximab beobachtet werden. Die Inzidenz unerwünschter kardiovaskulärer Ereignisse innerhalb von 30 Tagen war bei den Patienten, die Cangrelor erhielten, ähnlich wie bei denen, die Abciximab erhielten (7,6 % versus 5,3 %,  $p$ =nicht signifikant). Im Steady-State betrug die Plättchenaggregationshemmung im Mittelwert sowohl bei den mit einer hohen Dosis ( $4 \mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{min})$ ) Cangrelor behandelten Patienten als auch bei den Patienten, die mit Abciximab therapiert wurden, 100 %. Diese Studie zeigte darüber hinaus, dass Cangrelor durch einen schnellen Wirkungseintritt und eine kurze Halbwertszeit charakterisiert ist: die maximale Plättchenaggregationshemmung wurde bereits 15 Minuten nach Beginn einer Cangrelor-Infusion erzielt und bei einer Dosisrate von  $\leq 2 \mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{min})$  wurde bereits 15 Minuten nach Absetzen der Infusion eine Normalisierung der Plättchenaggregation beobachtet (48). Eine klinische Phase-III-Studie, die die Wirksamkeit von Cangrelor mit Clopidogrel vergleichen soll („Clinical Trial Comparing Cangrelor to Clopidogrel in Subjects Who Require PCI [CHAMPION-PCI]“) ist bereits angelaufen. Eine weitere Studie soll die Wirksamkeit einer Therapie mit Cangrelor zusätzlich zum Standardvorgehen bei Patienten mit PCI untersuchen („Clinical Trial Comparing Treatment with Cangrelor [in Combination with Usual Care] to Usual Care in Subjects who Require PCI [CHAMPION PLATFORM]“) (91).

Trotz viel versprechender Ergebnisse ist die Anwendung von Cangrelor aufgrund der intravenösen Applikation auf den stationären Bereich beschränkt.

Weitere Ansätze für eine antithrombozytäre Therapie werden intensiv beforscht. Thromboxan  $A_2$ /Prostaglandin  $H_2$  ( $\text{TXA}_2/\text{PGH}_2$ )-Rezeptor-Antagonisten sollen die Phospholipase-C-vermittelte Plättchenaktivierung verhindern. Allerdings war die Erforschung dieser Substanzen bis jetzt von mäßigem Erfolg gekrönt: die Entwicklung der meisten Substanzen wurde nach klinischen Phase-I- oder Phase-II-Studien beendet, da Mängel in Sicherheit oder Wirksamkeit vorhanden

waren. Lediglich die Entwicklung von S-18886 (Terutroban) wird weiterverfolgt, wobei Phase-II-Studien viel versprechende Ergebnisse zeigten (55).

Auch die Hemmung der Thrombinwirkung auf Thrombozyten ist ein neuer Ansatzpunkt in der Entwicklung antithrombozytärer Medikamente. Antagonisten des Thrombinrezeptors sind in der klinischen Entwicklungsphase. Der selektive Thrombinrezeptorantagonist SCH 530348 wird zurzeit in einer Phase-III-Studie an Patienten mit ACS untersucht (55).

Die Ergebnisse der laufenden Phase-II- und -III-Studien zu den neuen antithrombozytären Substanzen müssen abgewartet werden, um weitere Aussagen zu deren Bedeutung in der antithrombozytären Therapie machen zu können.

Um eine intensivierete antithrombozytäre Therapie einleiten zu können, müssen Risikopatienten, die von einem intensivierten Vorgehen profitieren, identifiziert werden. Die Ergebnisse der hier vorliegenden Studie deuten darauf hin, dass Patienten mit einem Wert von 7-9 Punkten im PREDICT-Score einem höheren Risiko für eine nicht adäquate Plättchenhemmung trotz derzeitiger Standardtherapie ausgesetzt sind. Diese Patienten sind gefährdet, ein erneutes kardiovaskuläres Ereignis zu erleiden. Die Identifikation solcher Patienten durch den PREDICT-Score ermöglicht es, therapeutische Konsequenzen zu ziehen. Einerseits ist bei den identifizierten Risikopatienten eine intensivierete antithrombozytäre Therapie im Rahmen der dargelegten Möglichkeiten angezeigt. Andererseits bedarf es eines regelmäßigen Monitorings bezüglich der Wirksamkeit der eingeleiteten Therapie.

Generell sollte die antithrombozytäre Therapie eines jeden Patienten bezüglich seines individuellen Risikos angepasst werden. Zur Risikobestimmung kann der hier entwickelte PREDICT-Score in der klinischen Anwendung weiter validiert werden.

## 7 Zusammenfassung

Nach einer interventionellen Koronarangioplastie, insbesondere nach koronarer Stentimplantation, ist die Thrombozytenaktivität der behandelten Patienten erhöht. Die Patienten unterliegen aufgrund dieser gesteigerten Thrombozytenaktivität einem erhöhten Risiko für thrombotische Komplikationen im weiteren Verlauf. Dabei hat sich die duale antithrombozytäre Therapie, bestehend aus Clopidogrel und ASS, als effektiv in der Reduktion atherothrombotischer Komplikationen - insbesondere thrombotischen Stentverschlüssen - erwiesen und gilt heute als therapeutischer Goldstandard für Patienten nach einer Koronarintervention.

Allerdings erleiden trotz dieser Therapie 6-9 % der mit einer koronaren Stentimplantation behandelten Patienten im längerfristigen Verlauf nach der Intervention ein erneutes kardiovaskuläres Ereignis. Jüngst wurde in mehreren Studien von einer hohen interindividuellen Variabilität in der Wirksamkeit von Clopidogrel berichtet. 5-30 % der Patienten sprechen nicht adäquat auf das Medikament an und werden als „Low-Responder“ bezeichnet. Diese Patienten haben ein erhöhtes Risiko für thrombotische Komplikationen. Deshalb ist es wichtig, diese Hochrisikopatienten zu identifizieren. Eine Messung der RPA ermöglicht es zwar, die Wirksamkeit der antithrombozytären Therapie festzustellen, ist aber in der klinischen Routine nur schwer durchführbar. Ein alternativ möglicher Ansatz ist die Etablierung eines Risikoscores, mit dessen Hilfe die Patienten, die mit einer hohen Wahrscheinlichkeit durch die konventionelle antithrombozytäre Therapie nicht ausreichend geschützt sind, identifiziert werden können. Ziel der hier vorliegenden Studie war die Entwicklung eines solchen Risikoscores: des PREDICT-Scores.

In der Studie wurde eine unselektierte Kohorte von 1092 Patienten mit symptomatischer KHK (SAP und ACS) und Stentimplantation untersucht. Die pharmakologische Wirksamkeit von Clopidogrel wurde mittels der ADP(20µM)-induzierten Plättchenaggregation quantifiziert. Die Messung fand frühestens 6

Stunden nach Gabe der Clopidogrel-Initialdosis statt. In einer multiplen Regressionsanalyse waren folgende klinische Charakteristika statistisch signifikant mit dem Auftreten einer erhöhten thrombozytären Restaktivität trotz antithrombozytärer Therapie assoziiert: Alter >65 Jahre, Akutes Koronarsyndrom, Niereninsuffizienz mit einem Kreatinin-Wert >1,5 mg/dl, eingeschränkte linksventrikuläre Pumpfunktion (Auswurffraktion <55 %) und Diabetes mellitus.

Abhängig vom Signifikanzniveau in der univariaten Analyse wurden die einzelnen Variablen mit den Faktoren 1-3 gewichtet. Auf diese Weise wurde ein Risikoscore mit einer Spannweite von 0-9 entwickelt. 3 Score-Niveaus wurden gebildet (1-3, 4-6, 7-9). Es konnte gezeigt werden, dass das Risiko einer erhöhten Thrombozytenrestaktivität mit steigendem Score-Niveau zunimmt (OR für Patienten mit einem Score-Wert von 7-9 im Vergleich zu einem Score-Wert von 0: 3,3; 95%-Konfidenzintervall: 1,8-6,0). Zudem geht die Inzidenz unerwünschter kardiovaskulärer Ereignisse im weiteren Verlauf von 30 Tagen mit der Höhe der RPA einher (4,8 % kardiovaskuläre Ereignisse im 3. Tertial versus 2,5 % im 2. Tertial und 1,5 % im 1. Tertial).

Der PREDICT-Score stellt eine Hilfe dar, Patienten mit einem erhöhten athrombotischen Risiko anhand einfach zu erhebender klinischer Faktoren zu erkennen und deren antithrombotische Therapie zu intensivieren. Künftig sollte der Score in weiteren klinischen Studien erprobt werden.

## 8 Abbildungsverzeichnis

**Abbildung 1:** Darstellung der Struktur ruhender und aktivierter Thrombozyten.

**Abbildung 2:** Schematische Darstellung der Thrombozytenadhäsion, der Phase der Stabilisierung, der Phase der Aktivierung und Formveränderung und der Phase der Spreizung.

**Abbildung 3:** Die thrombozytären P<sub>2</sub>-Rezeptoren.

**Abbildung 4:** Strukturformeln der Moleküle Ticlopidin und Clopidogrel.

**Abbildung 5:** Verteilung der durch 5- $\mu$ mol/l-ADP induzierten residuellen Plättchenaggregation bei 544 mit Clopidogrel therapierten Patienten.

**Abbildung 6:** Darstellung des Strahlengangs im Aggregometer.

**Abbildung 7:** Lichttransmissionskurve.

**Abbildung 8:** Verteilung der RPA-Werte in der Studienpopulation.

**Abbildung 9:** Prozentuale Verteilung der RPA-Werte in Perzentilen abhängig von der kumulativen Anzahl an Score-Variablen. Die Abbildungslegende ordnet den verschiedenen Balken im Diagramm die entsprechenden RPA-Perzentilen zu.

**Abbildung 10:** Inzidenz einer erhöhten RPA (RPA >46,9%) in Abhängigkeit von der Anzahl an Score-Variablen.

**Abbildung 11:** Inzidenz erneuter Krankheitsereignisse nach 30 Tagen abhängig von den Tertialen der RPA.

## 9 Tabellenverzeichnis

**Tabelle 1:** Thrombozytäre Membranglykoproteine.

**Tabelle 2:** Demographische Daten der Studienpopulation.

**Tabelle 3:** Demographische und klinische Charakteristika der Studienpopulation.

**Tabelle 4:** Demographische und klinische Charakteristika der Studienpopulation entsprechend der residuellen Plättchenaktivität.

**Tabelle 5:** Binäre logistische Regression für die Wahrscheinlichkeit einer erhöhten RPA in Abhängigkeit von der kumulativen Anzahl an Score-Variablen.



## 10 Abkürzungsverzeichnis

ACC/AHA/SCAI = American College of Cardiology/American Heart Association

Task Force on Practice Guidelines

ACS = Akutes Koronarsyndrom

ADP = Adenosindiphosphat

ASS = Acetylsalicylsäure

ATP = Adenosintriphosphat

BMI = Body Mass Index

Ca<sup>2+</sup> = Calcium

CYP = Cytochrom

GP = Glykoprotein

IAP = Instabile Angina pectoris

KHK = Koronare Herzkrankheit

ID = Initialdosis

LDL = Low-density-Lipoprotein

LVF = Linksventrikuläre Funktion

NF-κB = Nuklear-Faktor κB

NSTEMI = Nicht-ST-Hebungsinfarkt

OR = Odds Ratio

PADA = Platelet-Adhesion-Assay

PAVK = Periphere arterielle Verschlusskrankheit

PDGF = Platelet-derived-Growth-Faktor

PPP = plättchenarmes Plasma

PRP = plättchenreiches Plasma

PTCA = Perkutane Koronarangioplastie

RPA = Residuelle Plättchenaktivität

SAP = Stabile Angina pectoris

STEMI = ST-Hebungsinfarkt

TIMI-Risikoscore = Thrombolysis in Myocardial Infarction-Score

VASP = Vasodilator-stimuliertes Phosphoprotein

vWF = von-Willebrand-Faktor

## 11 Literaturverzeichnis

- (1). Aleil B, Ravanat C, Cazenave JP, Rochoux G, Heitz A, Gachet C. Flow cytometric analysis of intraplatelet VASP phosphorylation for the detection of clopidogrel resistance in patients with ischemic cardiovascular diseases. *J Thromb Haemost.* 2005;3:85-92.
- (2). Andersson T, Flockhart DA, Goldstein DB, Huang SM, Kroetz DL, Milos PM, Ratain MJ, Thummel K. Drug-metabolizing enzymes: evidence for clinical utility of pharmacogenomic tests. *Clin Pharmacol Ther.* 2005;78:559-81.
- (3). Angiolillo DJ, Bernardo E, Palazuelos J, Desai B, Weisberg I, Alfonso F, Guzman LA, Hernández-Antolin R, Zenni MZ, Macaya C, Fernandez-Ortiz A, Bass TA. Functional impact of high clopidogrel maintenance dosing in patients undergoing elective percutaneous coronary interventions. Results of a randomized study. *Thromb Haemost.* 2008;99:161-8.
- (4). Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Alfonso F, Macaya C, Bass TA, Costa MA. Variability in individual responsiveness to clopidogrel: clinical implications, management, and future perspectives. *J Am Coll Cardiol.* 2007;49:1505-16.
- (5). Angiolillo DJ, Fernández-Ortiz A, Bernardo E, Ramírez C, Sabaté M, Bañuelos C, Hernández-Antolín R, Escaned J, Moreno R, Alfonso F, Macaya C. High clopidogrel loading dose during coronary stenting: effects on drug response and interindividual variability. *Eur Heart J.* 2004;25:1903-10.
- (6). Angiolillo DJ, Shoemaker SB, Desai B, Yuan H, Charlton RK, Bernardo E, Zenni MM, Guzman LA, Bass TA, Costa MA. Randomized comparison of a high clopidogrel maintenance dose in patients with diabetes mellitus and coronary artery disease: results of the Optimizing Antiplatelet Therapy in Diabetes Mellitus (OPTIMUS) study. *Circulation.* 2007;115:708-16.
- (7). Antman EM, Cohen M, Bernink PJ, McCabe CH, Horacek T, Papuchis G, Mautner B, Corbalan R, Radley D, Braunwald E. The TIMI risk score for unstable angina/non-ST elevation MI: A method for prognostication and therapeutic decision making. *JAMA.* 2000;284:835-42.
- (8). Antman EM, Wiviott SD, Murphy SA, Voitek J, Hasin Y, Widimsky P, Chandna H, Macias W, McCabe CH, Braunwald E. 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.* 2008;51:2028-33.

- (9). Asai F, Jakubowski JA, Naganuma H, Brandt JT, Matsushima N, Hirota T, Freestone S, Winters KJ. Platelet inhibitory activity and pharmacokinetics of prasugrel (CS-747) a novel thienopyridine P2Y<sub>12</sub> inhibitor: a single ascending dose study in healthy humans. *Platelets*. 2006;17:209-17.
- (10). Ballow A, Gader AM, Huraib S, Al-Husaini K, Mutwalli A, Al-Wakeel J. Platelet surface receptor activation in patients with chronic renal failure on hemodialysis, peritoneal dialysis and those with successful kidney transplantation. *Platelets*. 2005;16:19-24.
- (11). Beckerath N, von, Kastrati A, Wieczorek A, Pogatsa-Murray G, Sibbing D, Graf I, Schoemig A. A double-blind, randomized study on platelet aggregation in patients treated with a daily dose of 150 or 75 mg of clopidogrel for 30 days. *Eur Heart J*. 2007;28:1814-9.
- (12). Beckerath N, von, Taubert D, Pogatsa-Murray G, Schoemig E, Kastrati A, Schoemig A. Absorption, metabolization, and antiplatelet effects of 300-, 600-, and 900-mg loading doses of clopidogrel: results of the ISAR-CHOICE (Intra-coronary Stenting and Antithrombotic Regimen: Choose Between 3 High Oral Doses for Immediate Clopidogrel Effect) Trial. *Circulation*. 2005;112:2946-50.
- (13). Bertrand ME, Rupprecht HJ, Urban P, Gershlick AH; CLASSICS Investigators. Double-blind study of the safety of clopidogrel with and without a loading dose in combination with aspirin compared with ticlopidine in combination with aspirin after coronary stenting : the clopidogrel aspirin stent international cooperative study (CLASSICS). *Circulation*. 2000;102:624-9.
- (14). Bertrand ME, Simoons ML, Fox KA, Wallentin LC, Hamm CW, McFadden E, De Feyter PJ, Specchia G, Ruzyllo W; Task Force on the Management of Acute Coronary Syndromes of the European Society of Cardiology. Management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. *Eur Heart J*. 2002;23:1809-40.
- (15). Bhatt DL, Fox KA, Hacke W, Berger PB, Black HR, Boden WE, Cacoub P, Cohen EA, Creager MA, Easton JD, Flather MD, Haffner SM, Hamm CW, Hankey GJ, Johnston SC, Mak KH, Mas JL, Montalescot G, Pearson TA, Steg PG, Steinhubl SR, Weber MA, Brennan DM, Fabry-Ribaud L, Booth J, Topol EJ; CHARISMA Investigators. Clopidogrel and aspirin versus aspirin alone for the prevention of atherothrombotic events. *N Engl J Med*. 2006;354:1706-17.
- (16). Bouchard BA, Tracy PB. Platelets, leukocytes, and coagulation. *Curr Opin Hematol*. 2001;8:263-9.
- (17). Brandt JT, Close SL, Iturria SJ, Payne CD, Farid NA, Ernest CS 2nd, Lachno DR, Salazar D, Winters KJ. Common polymorphisms of CYP2C19 and CYP2C9 affect the pharmacokinetic and pharmacodynamic response to clopidogrel but not prasugrel. *J Thromb Haemost*. 2007;5:2429-36.

(18). Brandt JT, Payne CD, Wiviott SD, Weerakkody G, Farid NA, Small DS, Jakubowski JA, Naganuma H, Winters KJ. A comparison of prasugrel and clopidogrel loading doses on platelet function: magnitude of platelet inhibition is related to active metabolite formation. *Am Heart J*. 2007;153:66.e9-16.

(19). Budde U. Diagnose von Funktionsstörungen der Thrombozyten mit Hilfe der Aggregometrie. *J Lab Med*. 2002;26:564-71.

(20). Cannon CP, Husted S, Harrington RA, Scirica BM, Emanuelsson H, Peters G, Storey RF; DISPERSE-2 Investigators. Safety, tolerability, and initial efficacy of AZD6140, the first reversible oral adenosine diphosphate receptor antagonist, compared with clopidogrel, in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndrome: primary results of the DISPERSE-2 trial. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50:1844-51.

(21). Caplain H, Donat F, Gaud C, Necciari J. Pharmacokinetics of clopidogrel. *Semin Thromb Hemost*. 1999;25 (Suppl 2):25-28.

(22). CAPRIE-Steering-Committee. A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). CAPRIE Steering Committee. *Lancet*. 1996;384:1329-39.

(23). Chen ZM, Jiang LX, Chen YP, Xie JX, Pan HC, Peto R, Collins R, Liu LS; COMMIT (CLOpidogrel and Metoprolol in Myocardial Infarction Trial) collaborative group. Addition of clopidogrel to aspirin in 45,852 patients with acute myocardial infarction: randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2005;366:1607-21.

(24). Clarke TA, Waskell LA. The metabolism of clopidogrel is catalyzed by human cytochrome P450 3A and is inhibited by atorvastatin. *Drug Metab Dispos*. 2003;31:53-9.

(25). Collier BS. Antiplatelet agents in the prevention and therapy of thrombosis. *Annu Rev Med*. 1992;43:171-80.

(26). Cuisset T, Frere C, Quilici J, Barbou F, Morange PE, Hovasse T, Bonnet JL, Alessi MC. High post-treatment platelet reactivity identified low-responders to dual antiplatelet therapy at increased risk of recurrent cardiovascular events after stenting for acute coronary syndrome. *J Thromb Haemost*. 2006;4:542-9.

(27). Cuisset T, Frere C, Quilici J, Morange PE, Nait-Saidi L, Carvajal J, Lehmann A, Lambert M, Bonnet JL, Alessi MC. Benefit of a 600-mg loading dose of clopidogrel on platelet reactivity and clinical outcomes in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndrome undergoing coronary stenting. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48:1339-45.

- (28). Ding Z, Kim S, Dorsam RT, Jin J, Kunapuli SP. Inactivation of the human P2Y<sub>12</sub> receptor by thiol reagents requires interaction with both extracellular cysteine residues, Cys17 and Cys270. *Blood*. 2003;101:3908-14.
- (29). Dorsam RT, Kunapuli SP. Central role of the P2Y<sub>12</sub> receptor in platelet activation. *J Clin Invest*. 2004;113:340-5.
- (30). Farid NA, Payne CD, Small DS, Winters KJ, Ernest CS 2nd, Brandt JT, Darstein C, Jakubowski JA, Salazar DE. Cytochrome P450 3A inhibition by ketoconazole affects prasugrel and clopidogrel pharmacokinetics and pharmacodynamics differently. *Clin Pharmacol Ther*. 2007;81:735-41.
- (31). Farid NA, Smith RL, Gillespie TA, Rash TJ, Blair PE, Kurihara A, Goldberg MJ. The disposition of prasugrel, a novel thienopyridine, in humans. *Drug Metab Dispos*. 2007;35:1096-104.
- (32). Frere C, Cuisset T, Morange PE, Quilici J, Camoin-Jau L, Saut N, Faille D, Lambert M, Juhan-Vague I, Bonnet JL, Alessi MC. Effect of cytochrome p450 polymorphisms on platelet reactivity after treatment with clopidogrel in acute coronary syndrome. *Am J Cardiol*. 2008;101:1088-93.
- (33). Gachet C. The platelet P2 receptors as molecular targets for old and new antiplatelet drugs. *Pharmacol Ther*. 2005;108:180-92.
- (34). Gawaz M. Das Blutplättchen. In: *Das Blutplättchen*. (Ed.), Georg Thieme Verlag, Stuttgart. 1999.
- (35). Gawaz M, Langer H, May AE. Platelets in inflammation and atherogenesis. *J Clin Invest*. 2005;115:3378-84.
- (36). Gawaz M, Neumann FJ, Ott I, May A, Ruediger S, Schoemig A. Changes in membrane glycoproteins of circulating platelets after coronary stent implantation. *Heart*. 1996;76:166-72.
- (37). Gawaz M, Neumann FJ, Ott I, May A, Ruediger S, Schoemig A. Role of activation-dependent platelet membrane glycoproteins in development of subacute occlusive coronary stent thrombosis. *Coron Artery Dis*. 1997;8:121-8.
- (38). Gawaz M, Neumann FJ, Ott I, Schiessler A, Schoemig A. Platelet function in acute myocardial infarction treated with direct angioplasty. *Circulation*. 1996;93:229-37.
- (39). Gawaz M, Neumann FJ, Schoemig A. Evaluation of platelet membrane glycoproteins in coronary artery disease : consequences for diagnosis and therapy *Circulation*. 1999;99:E1-E11.
- (40). Geisler T, Anders N, Paterok M, Langer H, Stellos K, Lindemann S, Herdeg C, May AE, Gawaz M. Platelet response to clopidogrel is attenuated in dia-

betic patients undergoing coronary stent implantation. *Diabetes Care*. 2007;30:372-4.

(41). Geisler T, Gawaz M. Clopidogrel Resistance/ Clopidogrel-Resistenz. *J Lab Med*. 2006;30:310-6.

(42). Geisler T, Gawaz M. Variable response to clopidogrel in patients with coronary artery disease. *Semin Thromb Hemost*. 2007;33:196-202.

(43). Geisler T, Gawaz M. Resistance to Antiplatelet Substances - a Real Clinical Problem. *Herz*. 2008;33:260-8.

(44). Geisler T, Kapp M, Goehring-Frischholz K, Daub K, Doesch C, Bigalke B, Langer H, Herdeg C, Gawaz M. Residual platelet activity is increased in clopidogrel- and ASA-treated patients with coronary stenting for acute coronary syndromes compared with stable coronary artery disease. *Heart*. 2008;94:743-7.

(45). Geisler T, Langer H, Wydymus M, Goehring K, Zuern C, Bigalke B, Stellos K, May AE, Gawaz M. Low response to clopidogrel is associated with cardiovascular outcome after coronary stent implantation. *Eur Heart J*. 2006;27:2420-5.

(46). Geisler T, Schaeffeler E, Dippon J, Winter S, Buse V, Bischofs C, Zuern C, Moerike K, Gawaz M, Schwab M. CYP2C19 and nongenetic factors predict poor responsiveness to clopidogrel loading dose after coronary stent implantation. *Pharmacogenomics*. 2008;9:1251-9.

(47). Giusti B, Gori AM, Marcucci R, Saracini C, Sestini I, Paniccchia R, Valente S, Antonucci D, Abbate R, Gensini GF. Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism, but not CYP3A4 IVS10 + 12G/A and P2Y12 T744C polymorphisms, is associated with response variability to dual antiplatelet treatment in high-risk vascular patients. *Pharmacogenet Genomics*. 2007;17:1057-64.

(48). Greenbaum AB, Grines CL, Bittl JA, Becker RC, Kereiakes DJ, Gilchrist IC, Clegg J, Stankowski JE, Grogan DR, Harrington RA, Emanuelsson H, Weaver WD. Initial experience with an intravenous P2Y12 platelet receptor antagonist in patients undergoing percutaneous coronary intervention: results from a 2-part, phase II, multicenter, randomized, placebo- and active-controlled trial. *Am Heart J*. 2006;151:689.e1-89.e10.

(49). Gurbel PA, Bliden KP, Guyer K, Cho PW, Zaman KA, Kreutz RP, Bassi AK, Tantry US. Platelet reactivity in patients and recurrent events post-stenting: results of the PREPARE POST-STENTING Study. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46:1820-26.

(50). Gurbel PA, Bliden KP, Hayes KM, Yoho JA, Herzog WR, Tantry US. The relation of dosing to clopidogrel responsiveness and the incidence of high post-

treatment platelet aggregation in patients undergoing coronary stenting. *J Am Coll Cardiol.* 2005;45:1392-96.

(51). Gurbel PA, Bliden KP, Hiatt BL, O'Connor CM. Clopidogrel for coronary stenting: response variability, drug resistance, and the effect of pretreatment platelet reactivity. *Circulation.* 2003;107:2908-13.

(52). Hass WK, Easton JD, Adams HP Jr, Pryse-Phillips W, Molony BA, Anderson S, Kamm B. A randomized trial comparing ticlopidine hydrochloride with aspirin for the prevention of stroke in high-risk patients. Ticlopidine Aspirin Stroke Study Group. *N Engl J Med.* 1989;321:501-07.

(53). Hochholzer W, Trenk D, Bestehorn HP, Fischer B, Valina CM, Ferenc M, Gick M, Caputo A, Buettner HJ, Neumann FJ. Impact of the degree of periprocedural platelet inhibition after loading with clopidogrel on early clinical outcome of elective coronary stent placement. *J Am Coll Cardiol.* 2006;48:1742-50.

(54). Hochholzer W, Trenk D, Frundi D, Blanke P, Fischer B, Andris K, Bestehorn HP, Buettner HJ, Neumann FJ. Time dependence of platelet inhibition after a 600-mg loading dose of clopidogrel in a large, unselected cohort of candidates for percutaneous coronary intervention. *Circulation.* 2005;111:2560-64.

(55). Husted S. New developments in oral antiplatelet therapy. *Eur Heart J.* 2007;9 (Suppl.D):D20-D27.

(56). Husted S, Emanuelsson H, Heptinstall S, Sandset PM, Wickens M, Peters G. Pharmacodynamics, pharmacokinetics, and safety of the oral reversible P2Y12 antagonist AZD6140 with aspirin in patients with atherosclerosis: a double-blind comparison to clopidogrel with aspirin. *Eur Heart J.* 2006;27:1038-47.

(57). Ivandic BT, Schlick P, Staritz P, Kurz K, Katus HA, Giannitsis E. Determination of clopidogrel resistance by whole blood platelet aggregometry and inhibitors of the P2Y12 receptor. *Clin Chem.* 2006;52:383-8.

(58). Jakubowski JA, Matsushima N, Asai F, Naganuma H, Brandt JT, Hirota T, Freestone S, Winters KJ. A multiple dose study of prasugrel (CS-747), a novel thienopyridine P2Y12 inhibitor, compared with clopidogrel in healthy humans. *Br J Clin Pharmacol.* 2007;63:421-30.

(59). Jakubowski JA, Winters KJ, Naganuma H, Wallentin L. Prasugrel: a novel thienopyridine antiplatelet agent. A review of preclinical and clinical studies and the mechanistic basis for its distinct antiplatelet profile. *Cardiovasc Drug Rev.* 2007;25:357-74.

(60). Jernberg T, Payne CD, Winters KJ, Darstein C, Brandt JT, Jakubowski JA, Naganuma H, Siegbahn A, Wallentin L. Prasugrel achieves greater inhibition of platelet aggregation and a lower rate of non-responders compared with clopido-

grel in aspirin-treated patients with stable coronary artery disease. *Eur Heart J*. 2006;27:1166-73.

(61). Kam PC, Nethery CM. The thienopyridine derivatives (platelet adenosine diphosphate receptor antagonists), pharmacology and clinical developments. *Anaesthesia*. 2003;58:28-35.

(62). Kehrel BE. Blood platelets: biochemistry and physiology. *Hamostaseologie*. 2003;23:149-58.

(63). Kunapuli SP. P2 receptors and platelet activation. *ScientificWorldJournal*. 2002;2:424-33.

(64). L'Allier PL, Ducrocq G, Pranno N, Noble S, Ibrahim R, Grégoire JC, Azzari F, Nozza A, Berry C, Doucet S, Labarthe B, Thérooux P, Tardif JC; PREPAIR Study Investigators. Clopidogrel 600-mg double loading dose achieves stronger platelet inhibition than conventional regimens: results from the PREPAIR randomized study. *J Am Coll Cardiol*. 2008;51:1066-72.

(65). Landray MJ, Wheeler DC, Lip GY, Newman DJ, Blann AD, McGlynn FJ, Ball S, Townend JN, Baigent C. Inflammation, endothelial dysfunction, and platelet activation in patients with chronic kidney disease: the chronic renal impairment in Birmingham (CRIB) study. *Am J Kidney Dis*. 2004;43:244-53.

(66). Lev EI, Patel RT, Guthikonda S, Lopez D, Bray PF, Kleiman NS. Genetic polymorphisms of the platelet receptors P2Y<sub>12</sub>, P2Y<sub>1</sub> and GP IIIa and response to aspirin and clopidogrel. *Thromb Res*. 2007;119:355-60.

(67). Marcucci R, Gori A, Paniccchia R, Giglioli C, Buonamici P, Antonucci D, Gensini G, Abbate R. Residual platelet reactivity is associated with clinical and laboratory characteristics in patients with ischemic heart disease undergoing PCI on dual antiplatelet therapy *Atherosclerosis*. 2007;195:e217 - e23.

(68). Matetzky S, Shenkman B, Guetta V, Shechter M, Bienart R, Goldenberg I, Novikov I, Pres H, Savion N, Varon D, Hod H. Clopidogrel resistance is associated with increased risk of recurrent atherothrombotic events in patients with acute myocardial infarction. *Circulation*. 2004;109:3171-5.

(69). Matsushima N, Jakubowski JA, Asai F, Naganuma H, Brandt JT, Hirota T, Freestone S, Winters KJ. Platelet inhibitory activity and pharmacokinetics of prasugrel (CS-747) a novel thienopyridine P2Y<sub>12</sub> inhibitor: a multiple-dose study in healthy humans. *Platelets*. 2006;17:218-26.

(70). Mehta SR, Yusuf S, Peters RJ, Bertrand ME, Lewis BS, Natarajan MK, Malmberg K, Rupprecht H, Zhao F, Chrolavicius S, Copland I, Fox KA; Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent Events trial (CURE) Investigators. Effects of pretreatment with clopidogrel and aspirin followed by long-term ther-



apy in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the PCI-CURE study. *Lancet*. 2001;358:527-33.

(71). Michelson AD. Flow cytometry: a clinical test of platelet function. *Blood*. 1996;87:4925-36.

(72). Montalescot G, Sideris G, Meuleman C, Bal-dit-Sollier C, Lellouche N, Steg PG, Slama M, Milleron O, Collet JP, Henry P, Beygui F, Drouet L; ALBION Trial Investigators. A randomized comparison of high clopidogrel loading doses in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndromes: the ALBION (Assessment of the Best Loading Dose of Clopidogrel to Blunt Platelet Activation, Inflammation and Ongoing Necrosis) trial. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48:931-8.

(73). Morrow DA, Antman EM, Parsons L, de Lemos JA, Cannon CP, Giugliano RP, McCabe CH, Barron HV, Braunwald E. Application of the TIMI risk score for ST-elevation MI in the National Registry of Myocardial Infarction 3. *JAMA*. 2001;286:1356-9.

(74). Mueller I, Besta F, Schulz C, Massberg S, Schoenig A, Gawaz M. Prevalence of clopidogrel non-responders among patients with stable angina pectoris scheduled for elective coronary stent placement. *Thromb Haemost*. 2003;89:783-87.

(75). Mueller I, Seyfarth M, Ruediger S, Wolf B, Pogatsa-Murray G, Schoemig A, Gawaz M. Effect of a high loading dose of clopidogrel on platelet function in patients undergoing coronary stent placement. *Heart*. 2001;85:92-93.

(76). Murugappa S, Kunapuli SP. The role of ADP receptors in platelet function. *Front Biosci*. 2006;11:1977-86.

(77). Neumann FJ, Gawaz M, Ott I, May A, Moessmer G, Schoemig A. Prospective evaluation of hemostatic predictors of subacute stent thrombosis after coronary Palmaz-Schatz stenting. *J Am Coll Cardiol*. 1996;27:15-21.

(78). Peters G, Robbie G. Single-dose pharmacokinetics and pharmacodynamics of AZD6140—an oral reversible ADP receptor antagonist [abstract]. *Haematologica*. 2004;989 (Suppl. 7):14.

(79). Prabhakaran S, Wells KR, Lee VH, Flaherty CA, Lopes DK. Prevalence and risk factors for aspirin and clopidogrel resistance in cerebrovascular stenting. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2008;29:281-5.

(80). Price MJ, Coleman JL, Steinhubl SR, Wong GB, Cannon CP, Teirstein PS. Onset and offset of platelet inhibition after high-dose clopidogrel loading and standard daily therapy measured by a point-of-care assay in healthy volunteers. *Am J Cardiol*. 2006;98:681-4.

- (81). Rehmel JL, Eckstein JA, Farid NA, Heim JB, Kasper SC, Kurihara A, Wrighton SA, Ring BJ. Interactions of two major metabolites of prasugrel, a thienopyridine antiplatelet agent, with the cytochromes P450. *Drug Metab Dispos.* 2006;34:600-7.
- (82). Reilly BM, Evans AT. Translating clinical research into clinical practice: impact of using prediction rules to make decisions. *Ann Intern Med.* 2006;144:201-9.
- (83). Sabatine MS, Cannon CP, Gibson CM, López-Sendón JL, Montalescot G, Theroux P, Claeys MJ, Cools F, Hill KA, Skene AM, McCabe CH, Braunwald E; CLARITY-TIMI 28 Investigators. Addition of clopidogrel to aspirin and fibrinolytic therapy for myocardial infarction with ST-segment elevation. *N Engl J Med.* 2005;352:1179-89.
- (84). Samara WM, Bliden KP, Tantry US, Gurbel PA. The difference between clopidogrel responsiveness and posttreatment platelet reactivity. *Thromb Res.* 2005;115:89-94.
- (85). Savi P, Pereillo JM, Uzabiaga MF, Combalbert J, Picard C, Maffrand JP, Pascal M, Herbert JM. Identification and biological activity of the active metabolite of clopidogrel. *Thromb Haemost.* 2000;84:891-6.
- (86). Schumann A, Wiesenburg A, Bucha E, Nowak G. Platelet Adhesion Assay (PADA), a new quantitative test for assessment of platelet function and therapeutic drug monitoring of GPIIb/IIIa and ADP receptor antagonists. *Hamostaseologie.* 2004;24:211-6.
- (87). Serebruany VL, Steinhubl SR, Berger PB, Malinin AI, Bhatt DL, Topol EJ. Variability in platelet responsiveness to clopidogrel among 544 individuals. *J Am Coll Cardiol.* 2005;45:246-51.
- (88). Singh M, Reeder GS, Jacobsen SJ, Weston S, Killian J, Roger VL. Scores for post-myocardial infarction risk stratification in the community. *Circulation.* 2002;106:2309-14.
- (89). Smith SC, Jr, Feldman TE, Hirshfeld JW Jr, Jacobs AK, Kern MJ, King SB 3rd, Morrison DA, O'Neil WW, Schaff HV, Whitlow PL, Williams DO, Antman EM, Adams CD, Anderson JL, Faxon DP, Fuster V, Halperin JL, Hiratzka LF, Hunt SA, Nishimura R, Ornato JP, Page RL, Riegel B; American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines; ACC/AHA/SCAI Writing Committee to Update 2001 Guidelines for Percutaneous Coronary Intervention. ACC/AHA/SCAI 2005 guideline update for percutaneous coronary intervention: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (ACC/AHA/SCAI Writing Committee to Update 2001 Guidelines for Percutaneous Coronary Intervention). *Circulation.* 2006;113:e166-286.

- (90). Steinhubl S, Berger PB, Mann JT 3rd, Fry ET, DeLago A, Wilmer C, Topol EJ; CREDO Investigators. Clopidogrel for the Reduction of Events During Observation. Early and sustained dual oral antiplatelet therapy following percutaneous coronary intervention: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2002;288:2411-20.
- (91). Steinhubl S, Roe MT. Optimizing platelet P2Y<sub>12</sub> inhibition for patients undergoing PCI. *Cardiovasc Drug Rev*. 2007;25:188-203.
- (92). Storey RF, Husted S, Harrington RA, Heptinstall S, Wilcox RG, Peters G, Wickens M, Emanuelsson H, Gurbel P, Grande P, Cannon CP. Inhibition of platelet aggregation by AZD6140, a reversible oral P2Y<sub>12</sub> receptor antagonist, compared with clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50:1852-6.
- (93). Storey RF, Oldroyd KG, Wilcox RG. Open multicentre study of the P2T receptor antagonist AR-C69931MX assessing safety, tolerability and activity in patients with acute coronary syndromes. *Thromb Haemost*. 2001;85:401-7.
- (94). Sugidachi A, Ogawa T, Kurihara A, Hagihara K, Jakubowski JA, Hashimoto M, Niitsu Y, Asai F. The greater in vivo antiplatelet effects of prasugrel as compared to clopidogrel reflect more efficient generation of its active metabolite with similar antiplatelet activity to that of clopidogrel's active metabolite. *J Thromb Haemost*. 2007;5:1545-51.
- (95). Tantry US, Bliden KP, Gurbel PA. What is the best measure of thrombotic risks--pretreatment platelet aggregation, clopidogrel responsiveness, or post-treatment platelet aggregation? *Catheter Cardiovasc Interv*. 2005;66:597-8.
- (96). Tantry US, Bliden KP, Gurbel PA. AZD6140. *Expert Opin Investig Drugs*. 2007;16:225-9.
- (97). Thérroux P, Fuster V. Acute coronary syndromes: unstable angina and non-Q-wave myocardial infarction. *Circulation*. 1998;97:1195-206.
- (98). Trenk D, Hochholzer W, Fromm MF, Chialda LE, Pahl A, Valina CM, Stratz C, Schmiebusch P, Bestehorn HP, Buettner HJ, Neumann FJ. Cytochrome P450 2C19 681G>A polymorphism and high on-clopidogrel platelet reactivity associated with adverse 1-year clinical outcome of elective percutaneous coronary intervention with drug-eluting or bare-metal stents. *J Am Coll Cardiol*. 2008;51:1925-34.
- (99). Tschoepe D, Schultheiss HP, Kolarov P, Schwippert B, Dannehl K, Nieuwenhuis HK, Kehrel B, Strauer B, Gries FA. Platelet membrane activation markers are predictive for increased risk of acute ischemic events after PTCA. *Circulation*. 1993;88:37-42.

(100). Wallentin L, Varenhorst C, James S, Erlinge D, Braun OO, Jakubowski JA, Sugidachi A, Winters KJ, Siegbahn A. Prasugrel achieves greater and faster P2Y<sub>12</sub>receptor-mediated platelet inhibition than clopidogrel due to more efficient generation of its active metabolite in aspirin-treated patients with coronary artery disease. *Eur Heart J*. 2008;29:21-30.

(101). Weintraub WS. Prediction scores after myocardial infarction: value, limitations, and future directions. *Circulation*. 2002;106:2292-3.

(102). Wenaweser P, Doerffler-Melly J, Imboden K, Windecker S, Togni M, Meier B, Haerberli A, Hess OM. Stent thrombosis is associated with an impaired response to antiplatelet therapy. *J Am Coll Cardiol*. 2005;45:1748-52.

(103). Wilkinson GR. Drug metabolism and variability among patients in drug response. *N Engl J Med*. 2005;352:2211-21.

(104). Wiviott SD, Antman EM, Winters KJ, Weerakkody G, Murphy SA, Behounek BD, Carney RJ, Lazzam C, McKay RG, McCabe CH, Braunwald E; JUMBO-TIMI 26 Investigators. Randomized comparison of prasugrel (CS-747, LY640315), a novel thienopyridine P2Y<sub>12</sub> antagonist, with clopidogrel in percutaneous coronary intervention: results of the Joint Utilization of Medications to Block Platelets Optimally (JUMBO)-TIMI 26 trial. *Circulation*. 2005;111:3366-73.

(105). Wiviott SD, Trenk D, Frelinger AL, O'Donoghue M, Neumann FJ, Michelson AD, Angiolillo DJ, Hod H, Montalescot G, Miller DL, Jakubowski JA, Cairns R, Murphy SA, McCabe CH, Antman EM, Braunwald E; PRINCIPLE-TIMI 44 Investigators. Prasugrel compared with high loading- and maintenance-dose clopidogrel in patients with planned percutaneous coronary intervention: the Prasugrel in Comparison to Clopidogrel for Inhibition of Platelet Activation and Aggregation-Thrombolysis in Myocardial Infarction 44 trial. *Circulation*. 2007;116:2923-32.

(106). Yusuf S, Zhao F, Mehta SR, Chrolavicius S, Tognoni G, Fox KK; Clopidogrel in Unstable Angina to Prevent Recurrent Events Trial Investigators. Effects of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation. *N Engl J Med*. 2001;345:494-502.

## 12 Anhang

### 12.1 Patienteninformation

**III. Medizinische Klinik  
Universitätsklinikum Tübingen  
(Direktor: Prof. Dr. Meinrad Gawaz)**

Ottfried-Müller-Str. 10  
72076 Tübingen  
Dr. Tobias Geisler 07071-29-84482  
Piepser 151-8835

#### **Patienteninformation**

zur Studie

#### **BEDEUTUNG EINER CLOPIDOGRELRESISTENZ FÜR DIE PROGNOSE BEI PATIENTEN MIT STENTIMPLANTATION UND BEI AKUTEM KORONAR- SYNDROM**

Sehr geehrte Frau, sehr geehrter Herr \_\_\_\_\_,

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

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

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

Obligat ist dafür ein Medikament mit dem Namen Clopidogrel (Iscover® oder Plavix®), das in Tablettenform vor (600 mg einmalig) und bis 6 Monate nach dem Eingriff (75 mg einmal täglich) eingenommen werden muss und vor einem akuten Verschluss durch Plättchenverklebung im Stentbereich schützt. Weiterhin erhalten Sie ASS (100-200 mg/Tag), das ebenfalls die Funktion der Plättchen hemmt.

### ***Welche Untersuchungen werden durchgeführt?***

Anhand von einer venösen Blutentnahme (10 ml) nach der Einnahme von Clopidogrel und ASS wird die Wirksamkeit dieser Medikamente gegen eine Plättchenverklebung durch eine labortechnische Untersuchung (Aggregometrie, in vitro Blutungszeit, Durchflusszytometrie) überprüft. Nach 3 und 6 Monaten werden Sie von einem der teilnehmenden Studienärzten telefonisch kontaktiert, um Informationen über Ihre gesundheitliche Verfassung einzuholen.

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

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

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

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

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

**Werden meine Daten vertraulich behandelt?**

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

## 12.2 Einverständniserklärung

**III. Medizinische Klinik  
Universitätsklinikum Tübingen  
(Direktor: Prof. Dr. Meinrad Gawaz)**

Ottfried-Müller-Str. 10  
72076 Tübingen  
Dr. Tobias Geisler 07071-29-84482  
Piepser 151-8835

### Einverständniserklärung

zur Studie

#### **BEDEUTUNG EINER CLOPIDOGRELRESISTENZ FÜR DIE PROGNOSE BEI PATIENTEN MIT STENTIMPLANTATION UND BEI AKUTEM KORONAR- SYNDROM**

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

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

Ich habe eine Kopie der Patienteninformation und dieser Einwilligungserklärung erhalten. **Ich erkläre hiermit meine freiwillige Teilnahme an dieser Studie.** Hiermit erkläre ich mich einverstanden, an der Untersuchung zur Evaluierung einer Relevanz einer Resistenz gegenüber den antithrombozytären Medikamenten Clopidogrel und ASS teilzunehmen.

Tübingen, \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Unterschrift des Patienten

\_\_\_\_\_  
Unterschrift des aufklärenden Arztes



## 13 Danksagung

Zuerst möchte ich mich bei Herrn Prof. Meinrad Gawaz für das Überlassen dieses interessanten Themas bedanken. Durch das Vertrauen, das mir auf diese Weise entgegen gebracht wurde, ist die Entstehung dieser Arbeit ermöglicht worden.

Herrn Dr. Tobias Geisler bin ich zu großem Dank verpflichtet. Seine engagierte Betreuung und sein stets offenes Ohr für Fragen aller Art waren mir während der Arbeit im Labor eine große Hilfe.

Darüber hinaus seien auch das Engagement und der aufopfernde Einsatz von Frau Iris Schäfer und Frau Kalouda Kathrilaka erwähnt, die stets im Labor zugegen waren.

Nicht zuletzt möchte ich an dieser Stelle meine Arbeitsgruppe im Labor, bestehend aus Monika Meissner, Nicole Anders und Julia Ebe, erwähnen und mich für die gute Zusammenarbeit bedanken.

Bedanken möchte ich mich auch bei meinen Eltern, ohne deren Unterstützung mein Studium nicht möglich gewesen wäre. Doch auch über die finanzielle Unterstützung hinaus standen sie mir stets mit Geduld und Einfühlungsvermögen bei. Auch bei meiner Schwester Corinna und meinem Freund Andreas Seethaler möchte ich mich hier bedanken, deren Zuspruch mir stets ein großer Motivationsschub war.

## 14 Lebenslauf

### Persönliche Daten

Name:	Dorothee Alexandra Graß
Geburtsdatum, -ort:	12. Juli 1982, Nürtingen
Staatsangehörigkeit:	deutsch
Konfession:	evangelisch
Familienstand:	ledig
Eltern:	Dietmar und Waltraud Graß

### Schulbildung

1989-1993	Grundschule Kohlberg, Landkreis Esslingen
1993-2002	Dietrich-Bonhoeffer-Gymnasium, Metzingen Abschluss Allgemeine Hochschulreife

### Studium

2002-2004	Studium der Zahnmedizin Eberhard Karls Universität Tübingen
Ab 2004	Studium der Humanmedizin Eberhard Karls Universität Tübingen Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung: März 2006
September 2006:	Beginn der Labortätigkeit in der Arbeitsgruppe 'Klinische Studien zur Pharmakotherapie bei kardiovaskulären Patienten'
25.06.2010	Ärztliche Prüfung (2. Staatsexamen)