

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Tübingen

Abteilung Innere Medizin III

Schwerpunkt: Kardiologie und Kreislauferkrankungen

Ärztlicher Direktor: Professor Dr. M. Gawaz

**Vermindertes Ansprechen auf die antithrombozytäre
Therapie mit Clopidogrel bei Patienten mit hohem Body
Mass Index**

**Inaugural – Dissertation
zur Erlangen des Doktorgrades
der Medizin**

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

**vorgelegt von
Mariya Gosheva
aus
Sofia, Bulgarien**

2013

Dekan: Professor Dr. I.B. Autenrieth
1. Berichterstatter: Professor Dr. M. Gawaz
2. Berichterstatter: Professor Dr. N. Stefan

Für Thomas

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen	5
1 Einleitung	8
1.1 Koronare Herzerkrankung	8
1.2 Thrombozyten	13
1.2.1 Morphologie der Thrombozyten	13
1.2.2 Thrombozytenfunktion und Mechanismen der Thrombozyten-Aktivierung und -Aggregation	13
1.3 ADP-Rezeptoren	16
1.3.1 ADP-Rezeptor P2X1	16
1.3.2 ADP-Rezeptor P2Y	16
1.4 Antithrombozytäre Substanzen	18
1.4.1 Cyclooxygenase-Hemmer, z.B. Acetylsalicylsäure (Aspirin [®] , ASS) ..	19
1.4.2 Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten (GP IIb/IIIa-Rezeptor-Blocker) ...	20
1.4.3 ADP-Rezeptor-Antagonisten (Thienopyridine)	21
1.5 Clopidogrel-Resistenz	24
1.6 Adipositas und Body-Mass-Index	27
1.7 Fragestellung	29
2 Material und Methodik	30
2.1 Material	30
2.1.1 Patientenkollektiv	30
2.1.2 Geräte und verwendete Materialien	31
2.2 Methodik	33
2.2.1 Blutentnahme	33
2.2.2 Impedanzaggregometrie mittels Multiplate [®] -System	34
2.2.3 Body-Mass-Index (BMI)	39
2.3 Statistische Auswertung	39
3 Ergebnisse	41
3.1 Charakterisierung der Studienpopulation	41
3.2 Prätherapeutisch und Posttherapeutisch gemessene Thrombozytenaggregation in Abhängigkeit vom BMI der Patienten im Vergleich	45
4 Diskussion	48
5 Zusammenfassung	56
6 Abbildungsverzeichnis	57
7 Tabellenverzeichnis	58
8 Literaturverzeichnis	59
9 Danksagung	68

Abkürzungen

Abkürzung	Erläuterung
Abb.	Abbildung
AC	Adenylatcyclase
ACE-Hemmer	„Angiotensin-Converting-Enzym“- Hemmer
ACS	Akutes Koronarsyndrom
ADP	Adenosindiphosphat
ADP-Test	Thrombozyten-Aktivierung durch ADP
ASS	Acetylsalicylsäure
ATP	Adenosintriphosphat
AT ₁ -Antagonisten	Angiotensin-II-Rezeptor-Subtyp-1-Antagonisten
AU	von engl. „Aggregation Units“ – Aggregationseinheiten
AUC	von engl. „Area under the Curve“ - Fläche unter der Kurve
BMI	Body-Mass-Index
BMS	von engl. „Bare-Metal-Stent“
Ca ²⁺	Kalziumionen
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
CK-MB	Creatin-Kinase MB
COX-1	Cyclooxygenase-1
CRP	C-reaktives Protein
CYP	Cytochrom P
DES	von engl. „Drug Eluting Stent“
d.h.	das heißt
EKG	Elektrokardiogramm
GDP	Guanosindiphosphat
GP	Glykoprotein
GP IIb-IIIa	Glykoprotein IIb-IIIa
GTP	Guanosintriphosphat
h	Stunde

IAP	Instabile Angina Pectoris
i.v.	intravenös
IL	Interleukin
IP3	Inositoltriphosphat
ITA	Impedanzthrombozytenaggregation
kg	Kilogramm
KHK	Koronare Herzkrankheit
KI	Konfidenzintervall
LDL	von engl. „low density lipoprotein“ – Lipoprotein niederer Dichte
LTA	Lichttransmissionsaggregometrie
LV-Funktion	Linksventrikuläre Funktion
mg	Milligramm
Min/ min	Minute
ml	Milliliter
µl	Mikroliter
m	Meter
µm	Mikrometer
µM	Mikromol
N/n	Anzahl
NaCl	Natriumchlorid
NSTEMI	von engl. „non-ST-segment-elevation myocardial infarction“ – Nicht-ST-Strecken-Hebungs-Myokardinfarkt
ox-LDL	von engl. „oxidized low density lipoprotein“ – oxidiertes Lipoprotein niederer Dichte
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
PCI	von engl. „percutaneous coronary intervention“ – Perkutane Koronarintervention
PKA	Proteinkinase Aktivierung
PLC	Phospholipase C
PPI	Protonpumpeninhibitoren
PTCA	Perkutane transluminale Koronarangioplastie

PTFE	Polytetrafluorethylen
RUO	von engl. „Research Use Only“ – nur für Forschungszwecke
r_s	Spearman Rangkorrelationskoeffizient
SAP	Stabile Angina Pectoris
SD	von engl. „standard deviation“ – Standardabweichung
sek/ s	Sekunde
STEMI	von engl. „ST-segment-elevation myocardial infarction“- ST-Strecken-Hebungs-Myokardinfarkt
Tab.	Tabelle
TNF	Tumornekrosefaktor
TTP	Thrombotisch-Thrombozytopenischen Purpura
U	von engl. „Unit“ - Bezeichnung für eine bestimmte Einheit
VASP	Vasodilatator stimuliertes Phosphoprotein
vs.	Versus
WF	Wichtungsfaktor
WHO	World Health Organization
°C	Grad Celcius

1 Einleitung

1.1 Koronare Herzerkrankung

Kardiovaskuläre Erkrankungen wie die koronare Herzerkrankung, sowie deren potentiell auftretenden Komplikationen zählen zu den häufigsten Krankheits- und Todesursachen in der Bundesrepublik Deutschland und anderen Industrieländern (Statistisches Bundesamt Deutschland, 2010).

Die Atherosklerose stellt die pathophysiologische Grundlage der koronaren Herzerkrankung (KHK) dar. Dabei handelt es sich nicht um eine altersbedingte Erscheinung, sondern um eine progressive, chronische Entzündungsreaktion der arteriellen Gefäße. (1) (2) (3) Sie ist charakterisiert durch die Ansammlung von Lipiden, fibröser extrazellulärer Matrix und inflammatorischen Zellen in der Gefäßwand. (3) Die inflammatorische Komponente der Atherogenese wird als Bindeglied zwischen den verschiedenen kardiovaskulären Risikofaktoren (Hypercholesterinämie, Adipositas, arterielle Hypertonie, Nikotinabusus, Diabetes mellitus) und der Entstehung, dem Wachstum sowie der Destabilisierung atherosklerotischer Plaques verstanden. (3) (4)

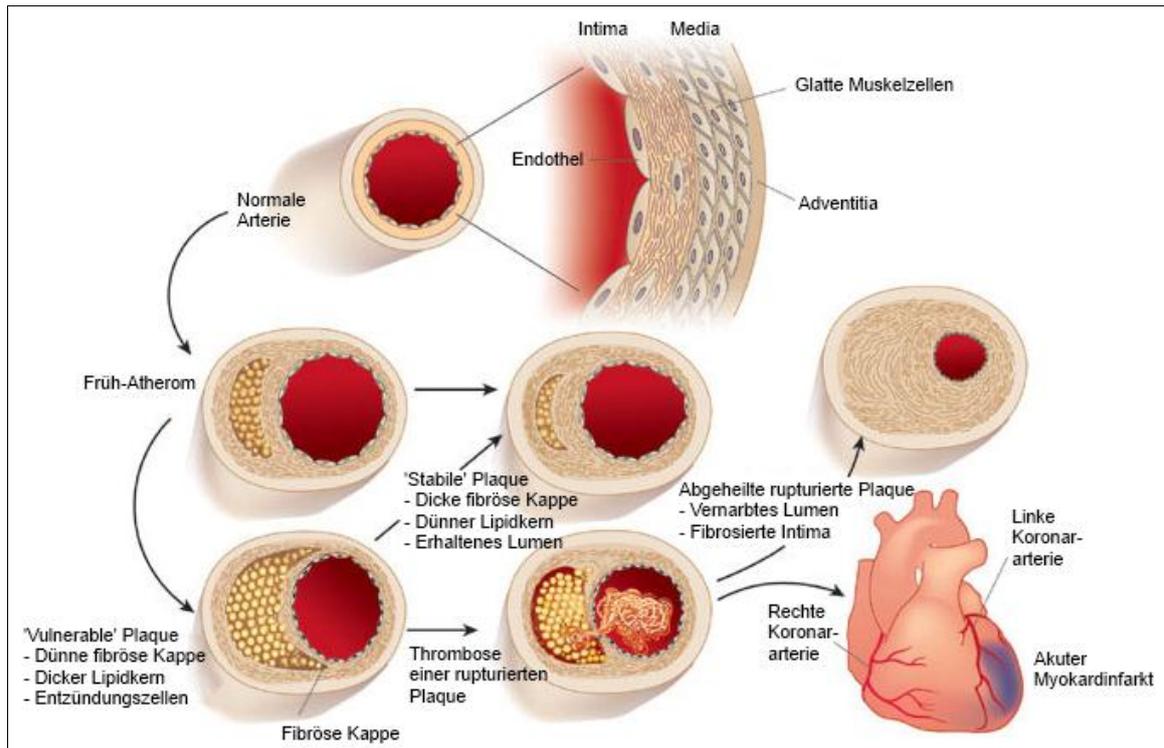


Abb. 1: Verlauf der Atherosklerose

(modifiziert nach *Libby, P. (3)*)

Die Atherosklerose entsteht in mehreren Schritten. Die endotheliale Dysfunktion spielt hierbei eine entscheidende Rolle. (2) Wird das Endothel durch einen oder mehrere der oben genannten Risikofaktoren geschädigt, kommt es zu dessen erhöhten Durchlässigkeit für Lipoproteine. (2) (5) Daraus resultiert eine Akkumulation von LDL im Subendothel. Das LDL wird über reaktive Sauerstoffradikale oxidiert, was eine anschließende Erhöhung der inflammatorischen Antwort auslöst. (2) (6) Die Endothelzellen werden vermehrt aktiviert und exprimieren proinflammatorische- und Adhäsionsmoleküle. (2)

Thrombozyten spielen ebenfalls eine wichtige Rolle bei der Entwicklung atherosklerotischen Läsionen. Gerät das streng kontrollierte Gleichgewicht zwischen aktivierenden und hemmenden Einflüssen der im Blut zirkulierenden Thrombozyten durch die Risikofaktoren außer Kontrolle, so kommt es zur vermehrten Thrombozytenaggregation. (7) Die zirkulierenden Thrombozyten können sowohl an das aktivierte Endothel, als auch an die nach einer Endothelzellapoptose frei gelegte subendotheliale Matrix anhaften. (8) Nach der Adhäsion sekretieren die Plättchen eine Reihe von proinflammatorischen

Substanzen, die das Voranschreiten der Atherosklerose verstärken. (8) Zusätzlich werden durch die adhärenenten Thrombozyten zirkulierende Monozyten zur Transmigration über das aktivierte Endothel in die frühe intimale Läsion angeregt. (6)

Im nächsten Schritt der Atherogenese werden die Monozyten zur Proliferation und Ausdifferenzierung zu Makrophagen stimuliert. Durch die Akkumulation von oxidierten LDL-Partikeln in den Makrophagen entstehen besonders fettreiche Makrophagen, die als Schaumzellen bezeichnet werden und typisch für die frühe atherosklerotische Läsion, den „fatty streak“, sind. (1) Dieser asymptomatische und grundsätzlich reversible Vorgang ist besonders häufig bei Jugendlichen zu beobachten. (6) Die Entzündungsreaktion aktiviert glatte Muskelzellen der Media, welche in den geschädigten Bereich der Intima einwandern und dort verstärkt extrazelluläre Matrixproteine sezernieren. (1) Bei unvermindertem Bestehen dieser inflammatorische Antwort kommt es zur Verdickung der Arterienwände und kompensatorisch zu Vasodilatation, was als „Remodeling“ bezeichnet wird. (1) Dieser Prozess führt letztendlich zur Ausbildung einer stabilen atherosklerotischen Läsion, die durch eine dicke fibröse Kappe, bestehend aus vielen glatten Muskelzellen in reichlich extrazellulärer Matrix, und einen verhältnismäßig kleinen, prothrombogenen, lipidreichen Plaquekern gekennzeichnet ist. (1) (3) Durch das Ansammeln und die Apoptose von Schaumzellen kommt es zur Vergrößerung des lipidreichen und/oder nekrotischen Plaquekerns. Eine solche Läsion, auch atheromatöse Plaque genannt, ist nicht mehr stabil, sondern vulnerabel und rupturgefährdet. (1) (3) Das Verhältnis zwischen der Kappe und dem Kern kann sich beliebig gestalten, allerdings haben die beiden Extremvarianten ganz unterschiedliche klinische Auswirkungen. Die stabilen Läsionen sind meistens klinisch inapparent, während die vulnerablen Läsionen öfters zu Koronarthrombose führen. (9) Es scheint, dass hauptsächlich zwei gewebebildende Prozesse für die Stabilität der Plaque verantwortlich sind. Einerseits verstärken die glatten Muskelzellen die Struktur der Plaque durch die Produktion von extrazellulärer Matrix. Andererseits führt die lipidassoziierte Entzündungsreaktion zu

Destabilisierung der Läsion. (9) Ob eine Plaque stabil oder vulnerabel ist, hängt also von dem in diesem Moment stattfindenden Prozess ab. (9)

Vorangeschrittene Läsionen neigen zu Kalzifizierung und Neovaskularisation. Die kleinen Gefäße sprossen aus der Adventitia ein, sind wenig widerstandsfähig und dienen als Quelle für weitere inflammatorische Zellen. (2) Die Ruptur solcher fragiler Mikrogefäße führt durch Plaque-Einblutung zu einer Thrombose in situ in der Intima mit konsekutiver Freisetzung verschiedenen Mediatoren, welche zur Progression der Läsion beitragen. (3) (4) Dies ist eine der drei histopathologischen Formen der Plaqueruptur. Die klinischen Manifestation einer rupturierten Plaque reichen von völlig beschwerdefrei, über stabile Angina pectoris bis hin zum transmuralen Myokardinfarkt. (4) Eine andere Möglichkeit ist die oberflächliche Plaque-Erosion. Man spricht davon, wenn es auf einem limitierten Areal zu einer Schädigung bzw. Erosion des schützenden Gefäßendothels kommt. Die Exposition subendothelialer Strukturen fördert die Adhäsion aktivierter Thrombozyten. (4) Dies läuft meist klinisch asymptomatisch ab, wird aber für etwa 30% aller akuten Koronarthrombose verantwortlich gemacht. (4) Die Plaque-Erosion ist häufig mit Nikotinkonsum assoziiert und tritt vor allem bei Frauen und jüngeren Männern unter 50 Jahren auf. (10) Die dritte und häufigste Form der Plaqueruptur stellt ein Aufbrechen der bindegewebshaltigen Plaquekappe im Bereich der Schulterregion dar. Sie wird als Ursache von 60% bis 75% aller akuten Koronarsyndrome angegeben. (11) Die inflammatorische Gefäßwandinfiltration spielt speziell bei dieser Form eine wichtige Rolle. Die Schulterregion, die Insertionsstelle der Läsion in der gesunden Gefäßwand, gilt als besonders rupturgefährdet und stellt eine Prädilektionsstelle für inflammatorische Zellen (besonders Makrophagen und T-Lymphozyten) dar. (4) (12) Die Ruptur einer atherosklerotischen Läsion führt zur Freisetzung zahlreicher prothrombogener Substanzen, welche nach Kontakt mit dem Blutstrom die Bildung eines eventuell fatalen gefäßverschließenden plättchen- und fibrinreichen arteriellen Thrombus induzieren können. (11)

Die Methode der Wahl zur Versorgung von höhergradigen Koronarstenosen sowie akuten thrombotischen Koronarverschlüssen ist die perkutane transluminale Koronarangioplastie (PTCA), die manuelle Aufdehnung koronarer Engstellen, mit anschließender Implantation eines Stents. Die erste Koronarangioplastie wurde im Jahr 1977 von Grüntzig durchgeführt. (13) Erst neun Jahre später wurde der erste Stent implantiert. (13) Dabei wird nach Anlegen einer Schleuse in die Femoralarterie ein Führungsdraht eingeführt. Über diesen wird ein Ballonkatheter gelegt, welcher im Bereich der Stenose aufgeblast wird. Dadurch werden die verengten Gefäßabschnitte wieder aufgeweitet. Anschließend wird häufig eine Stentimplantation zur Reduktion der Restenosen und akuten Verschlüsse im Interventionsbereich durchgeführt. (14) Zurzeit werden zwei Arten von Stents angewendet: Unbeschichtete Stents, sogenannte „Bare Metal Stens“ (BMS) und mit Medikamenten beschichteten Stents, genannt „Drug Eluting Stens“ (DES), wie z.B. Endeavor[®], CYPHER[®] oder TAXUS[®]. Für die Beschichtung dieser Stents werden antiproliferative Substanzen genutzt, um eine Verzögerung der Endothelialisierung und dadurch eine Prophylaxe der In-Stent-Restenose zu erzielen.

Thrombozyten spielen eine wichtige Rolle bei thromboischämischen Komplikationen nach Koronarinterventionen wie PTCA und Stentimplantation. (15) Durch die Stentimplantation kann es zu einem lokalen Gefäßtrauma kommen mit einer daraus resultierenden Exposition von subendothelialen thrombogenen Gefäßwandkomponenten, was letztendlich zur Thrombozytenaktivierung und zur Entstehung eines intraluminalen Thrombus führen kann. (16) Die Thrombozyten sind auch am Entzündungsprozess der koronaren Atherosklerose beteiligt. (15) Aus diesem Grund gehört die medikamentöse Therapie nach wie vor zur Basisbehandlung der KHK. Die antithrombozytäre Therapie bietet neben verschiedenen anderen Ansatzpunkten eine Möglichkeit zur Sekundärprophylaxe der KHK. (17)

1.2 Thrombozyten

1.2.1 Morphologie der Thrombozyten

Thrombozyten, auch Blutplättchen genannt, sind anukleäre, korpuskuläre Bestandteile des zirkulierenden Blutes. Im physiologischen Zustand befinden sich zwischen 150 000 und 400 000 Thrombozyten/ μl Blut, die durchschnittlich 7 Tage im peripheren Blut zirkulieren. Anschließend werden sie im retikulären System der Leber und Milz abgebaut. (18) Die Thrombozyten werden im Knochenmark durch Abschnürungen vom Zytoplasma der Megakaryozyten gebildet. (19) (20) Im ruhenden, nicht aktivierten Zustand weisen sie eine charakteristische diskoidale Form mit einem Durchmesser von 2 bis 4 μm und einer Dicke von 0,75 μm auf. (21).

1.2.2 Thrombozytenfunktion und Mechanismen der Thrombozyten-Aktivierung und -Aggregation

Die Hauptfunktion der Thrombozyten besteht darin, die Integrität des vaskulären Systems aufrechtzuerhalten. Im physiologischen Zustand zirkulieren die Thrombozyten frei in einem geschlossenen Gefäßsystem. Durch die isolierende Endothelzellschicht kommt es zu keinem Anhalten des Blutflusses und zu keinem Blutaustritt in das umliegende Gewebe. (22) Unter solchen Bedingungen sind die Thrombozyten im inaktiven diskoiden Zustand und interagieren weder miteinander noch mit anderen Zellen im Blut. Im Falle einer Schädigung oder Verletzung der Gefäßinnenwand oder einer Aktivierung des Endothels werden die Blutplättchen aktiviert. Unter physiologischen Bedingungen kommt es nach einer traumatischen Gefäßverletzung zur Bildung eines abdichtenden Pfropfes und dadurch zum Verschließen der Läsion und zum Sistieren der Blutung an dieser Stelle. (20) (22) (23) Die Thrombozyten und das Hämostasesystem können allerdings nicht zwischen traumatischen Verletzungen und pathophysiologischen Prozessen unterscheiden. Infolge können chronische vaskuläre Erkrankungen durch Erosion des Plaque-Endothels oder durch Plaqueruptur in atherosklerotisch veränderten Gefäßen

akute Gerinnselbildung verursachen. (24) Dies bedeutet, dass Thrombozyten nicht nur unter physiologischen (während der Hämostase), sondern auch unter pathophysiologischen Bedingungen (während der Bildung gefäß-verschliessender Thrombi) eine wichtige Rolle spielen. (24) (25) (26) Die Bildung eines Thrombozytenaggregates ist ein hoch komplexer Prozess, der aus drei aufeinander abgestimmten und verknüpften Phasen, nämlich der Adhäsion, Aktivierung und Aggregation, besteht. (20) (22) (23)

Nach einer Verletzung des Gefäßendothels werden subendotheliale extrazelluläre Matrixstrukturen und Adhäsionsproteine wie z.B. Kollagen und von-Willebrand-Faktor freigelegt. (20) (24) (27) Zwei Membranglykoproteine der Thrombozyten interagieren direkt mit dem exponierten Kollagen (24) und vermitteln das initiale Abfangen („tethering“), Rollen („rolling“), sowie intrazelluläre Signale zur Aktivierung der Thrombozyten. Im Anschluss daran kommt es zur stabilen Adhäsion und Ausbreiten der Blutplättchen. (20) (22) (26) (28) Die Adhäsion der Thrombozyten führt zu deren Aktivierung. Die so aktivierten Blutplättchen führen zu einem Gestaltwandel, auch „shape change“ genannt. Gleichzeitig kommt es zur Sekretion der Inhaltsstoffe der thrombozytären Granula, was zur Aktivierung anderer Plättchen führt und schließlich die Aggregation der Thrombozyten bewirkt. (22)

Der Gestaltwandel läuft innerhalb weniger Sekunden nach Aktivierung ab. Die typische diskoide Form ändert sich durch Bildung von Ausstülpungen der Zytoplasmamembran (Pseudopodien und Filopodien). Die Oberfläche vergrößert sich von ursprünglich $8 \mu\text{m}^2$ auf bis zu $13 \mu\text{m}^2$. (21) Die Formveränderung der Plättchen ist abhängig von der zytoplasmatischen Ca^{2+} -Konzentration. Verschiedene Agonisten spielen eine Rolle bei der Aktivierung und der Formveränderung. Die wichtigsten Stimuli innerhalb der Adhäsionssubstrate sind Kollagen und von-Willebrand-Faktor. (22) Neben diesen Stimuli können auch andere Agonisten die Aktivierung und Formänderung der Plättchen induzieren, z.B. Thrombin, welches auf der Oberfläche von aktivierten Blutplättchen gebildet wird, ADP, welches von Erythrozyten, Endothelzellen, vom geschädigten Gefäßwandgewebe oder aus

den Granula der Thrombozyten freigesetzt wird, sowie Thromboxan A₂. (22) ADP ist ein schwacher Agonist, der direkt nur eine Formänderung und reversible Plättchenaggregation bewirkt. Trotzdem ist er essentiell, da er nach seiner Sekretion aus der Thrombozytengranula die Antwort anderer Agonisten verstärkt. ADP interagiert mit zwei spezifischen Rezeptoren auf der Plättchenoberfläche. Der Signalweitergabe beinhaltet einen kurzen Anstieg der freien Ca²⁺-Ionen, vermittelt durch den G_q-gekoppelten P2Y₁, sowie die Inhibition der Adenylatcyclase, was durch einen G_i-gekoppelten P2Y₁₂-Rezeptor vermittelt wird. Die Aktivierung beider Signalwege ist zum Auslösen einer normalen ADP-induzierten Aggregation notwendig. (22)

Eine weitere wichtige Konsequenz der Plättchenaktivierung besteht in der Oberflächenexposition anionischer Phospholipide, vor allem Phosphatidylserin, welche Bindestellen für verschiedene Enzyme und Kofaktoren der Gerinnungskaskade darstellen. (22)

Die Aggregation stellt einen Amplifikationsprozess dar, welcher innerhalb sehr kurzer Zeit (15 Sekunden bis 2 Minuten) zur Bildung eines wund- oder gefäßverschließenden Plättchenthrombus führt. (21) (22)

Die Thrombozytenaktivierung ist mit der gleichzeitigen Transformation des Fibrinogen- und Kollagenrezeptors verbunden, welche eine feste Bindung zu den entsprechenden Komponenten der extrazellulären Matrix vermittelt. Die so ausgelöste Aktivierung bzw. Modifikation der Ligandenaffinität des thrombozytären Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ (Fibrinogenrezeptor), auch bekannt als Glykoprotein IIb/IIIa (GPIIb/IIIa) (22), führt zur Bindung an plasmatisches Fibrinogen. Da sich ein Fibrinogenmolekül an zwei Fibrinogenrezeptoren unterschiedlicher Thrombozyten binden kann, kommt es zur Aggregation. Der Fibrinogenrezeptor bindet sich auch an subendotheliales Fibronectin. So kann ein Aggregat aktivierter Thrombozyten direkt mit der subendothelialen Matrix eine feste Verbindung eingehen. (8) Die so entstandene Schicht ist das Substrat zur Rekrutierung weiterer Plättchen über Fibrinogenbrücken zwischen jeweils zwei $\alpha_{IIb}\beta_3$ -Rezeptoren. (8) (29) Die initiale GPIIb/IIIa – Fibrinogen – Interaktion ist noch reversibel (primäre Aggregationsphase). Die sekundäre

Aggregationsphase findet statt, wenn die Inhaltsstoffe der thrombozytären Granula freigesetzt werden und nach der Spaltung des Fibrinogens zu Fibrin, welche zu einer irreversiblen Bindung an das Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ führt. (21) (22)

1.3 ADP-Rezeptoren

ADP stellt einen bedeutenden Thrombozytenagonisten dar, welcher die Blutplättchen über die Bildung spezifischer purinerger Membranrezeptoren aktiviert. (30) (31)

1.3.1 ADP-Rezeptor P2X₁

Der P2X₁-Rezeptor wurde erst mal 1994 beschrieben. (32) Er ist ein ligandengesteuerter Kationenkanal, der zum sofortigen Einstrom von Kalzium aus dem Extrazellulärraum führt. Die genomische Sequenz ist beim Menschen auf Chromosom 17 lokalisiert. (33) Der P2X₁ ist weitläufig exprimiert auf erregbaren Zellen wie Muskelzellen und Neuronen sowie Gliazellen. Pharmakologisch zeigt der P2X₁ eine Aktivierbarkeit durch ATP sowie verschiedene ATP-Derivate, sowie eine schwächere Aktivierbarkeit durch ADP. (32) (33) P2X₁-Rezeptoren stellen keinen Angriffspunkt für die Substanzklasse der Thienopyridine dar. Dies könnte eine Ursache dafür sein, dass trotz Behandlung mit Ticlopidin oder Clopidogrel ein intrazellulär Kalziumanstieg sowie eine Formänderung der Thrombozyten zu beobachten ist. (30)

1.3.2 ADP-Rezeptor P2Y

P2Y-Rezeptoren bestehen aus sieben transmembranösen Domänen, die an G-Proteine gekoppelt die ADP-induzierte Aktivierung amplifizieren. (34) Die extrazelluläre Bindung von ADP an den Rezeptor bewirkt, dass im Zellinneren GDP durch GTP ersetzt wird. Es erfolgt eine Konformationsänderung des G-Proteins, worauf sich dessen aktive α -Untereinheit abspaltet und im Zellinneren über ein Signalmolekül („second messenger“, z.B. IP₃, cAMP) die Wirkung weiterleitet - die Erhöhung der intrazellulären Konzentration an Kalziumionen.

(34) Gleichzeitig wird das gebundene GTP zu GDP hydrolysiert und das G-Protein wieder inaktiviert. (34) Nach den verschiedenen Signalmolekülen werden die G-Proteine sowie die P2Y-Rezeptoren klassifiziert. (34) Im Menschen ist die genomische Sequenz der P2Y-Rezeptoren auf Chromosom 3 lokalisiert. (35) (36)

Der P2Y₁-Rezeptor wurde erstmals 1993 am Huhn beschrieben, die humane Sequenz wurde 1996 publiziert. (35) Es handelt sich um einen G_q-gekoppelten Rezeptor, welcher die ADP-stimulierte Freisetzung von intrazellulärem Ca²⁺, den Gestaltwandel, sowie eine transiente Aggregation der Blutplättchen vermittelt. Darüber hinaus ist dieser Rezeptor an der Kollagen-induzierten Thrombozytenaktivierung und Aggregation beteiligt. (30)

Der P2Y₁₂-Rezeptor wurde erstmals im Jahre 2000 auf molekularer Ebene beschrieben. (36) Hierbei handelt es sich um einen G_i-gekoppelten Rezeptor, welcher vor allem für die ADP-abhängige Inhibition der Adenylatcyclase sowie für die Potenzierung der Thrombozytenaggregation und Sekretion induziert durch verschiedene Stimuli wie z. B. ADP, Kollagen, Thrombin und Thromboxan A₂ verantwortlich ist. (30) (31)

Eine vollständige ADP-induzierte Plättchenaggregation erfordert die Koaktivierung der Rezeptoren P2Y₁ und P2Y₁₂. Die ADP-Wirkung am P2Y₁₂ wird unter Einfluss von Thienopyridinen blockiert.

Abb. 2 bietet eine Übersicht der verschiedenen ADP-Rezeptoren auf thrombozytärer Oberfläche und stellt schematisch die Wirkungsweise von Clopidogrel dar.

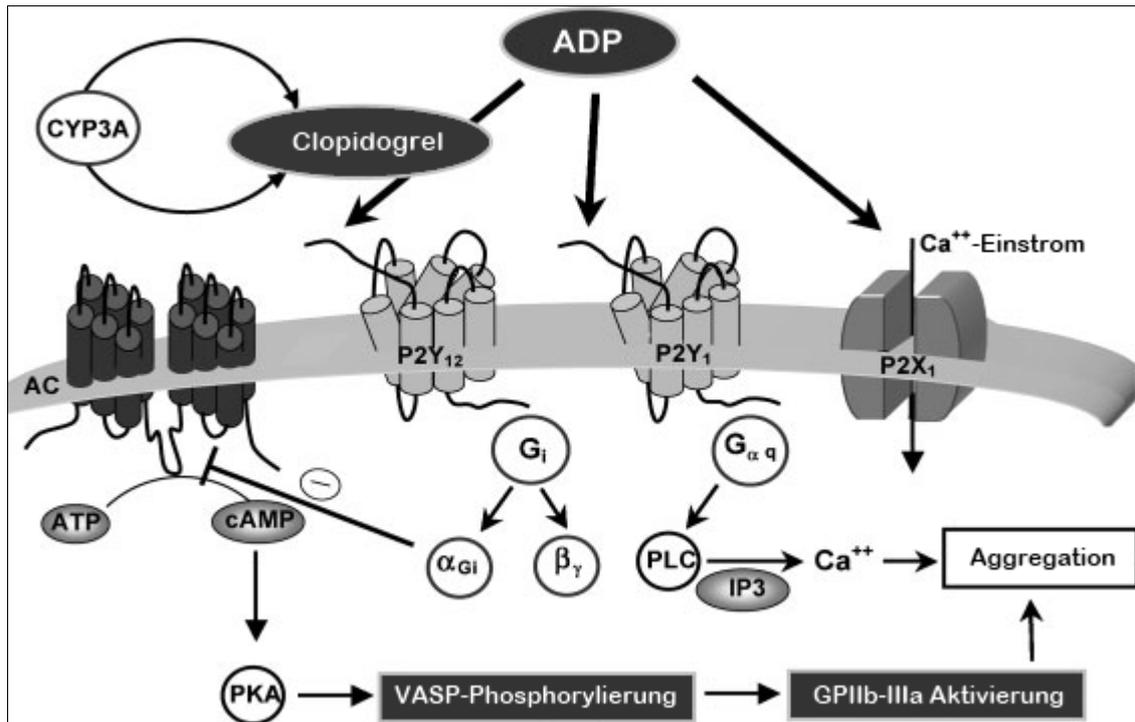


Abb. 2: Übersicht über die ADP-Rezeptoren auf der Thrombozytenoberfläche und den Wirkungsmechanismus von Clopidogrel

(modifiziert nach Geisler et al. (37))

Der aktive Metabolit von Clopidogrel inhibiert irreversibel den G_i -gekoppelten $P2Y_{12}$ -Rezeptor auf der Thrombozytenoberfläche. Dadurch wird die ADP-induzierte Kaskade, welche über die Freisetzung der α - und β -Untereinheiten des $P2Y_{12}$ -Rezeptors und die Produktion des cAMPs von ATP abläuft, gehemmt. Das Ende dieser Kettenreaktion – die Aktivierung des GP IIb/IIIa-Rezeptors – wird blockiert und eine Inhibition der Plättchenaggregation erreicht.

(Abkürzungen: AC - Adenylatcyclase; ADP - Adenosindiphosphat; ATP - Adenosintri-phosphat; cAMP - zyklisches Adenosinmonophosphat; CYP3A - Cytochrom P450 3A, $G_{\alpha q}$ - $G_{\alpha q}$ -Protein, G_i - inhibitorisches G-Protein, IP3 - Inositoltriphosphat 3, PKA - Proteinkinase Aktivierung, PLC - Phospholipase C, VASP - Vasodilatator stimuliertes Phosphoprotein)

1.4 Antithrombozytäre Substanzen

Die Hemmung der Thrombozytenfunktion mittels antithrombozytärer Substanzen hat sich als eine der Hauptstützen in der Prophylaxe sowie Behandlung thrombotischer Komplikationen bei Patienten mit kardio- und cerebrovaskulären Erkrankungen etabliert. (1) (38) Acetylsalicylsäure (Aspirin[®], ASS) stellt die hierzu derzeit am häufigsten eingesetzten Substanz dar. (38) (39) Da die Blutplättchenaktivierung jedoch über unterschiedliche Signalwege abläuft, welche nicht alle durch ASS beeinflusst werden können, wurden zusätzliche antithrombozytäre Substanzen entwickelt. Derzeit sind drei

Hauptklassen von Thrombozytenfunktionshemmern in Gebrauch, welche entweder intrazelluläre Thrombozytenaktivierungsschritte oder aber spezifische Rezeptoren auf der Blutplättchenoberfläche blockieren: (a) Acetylsalicylsäure, (b) Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten und (c) ADP-Rezeptor-Antagonisten. (38)

1.4.1 Cyclooxygenase-Hemmer, z.B. Acetylsalicylsäure (Aspirin[®], ASS)

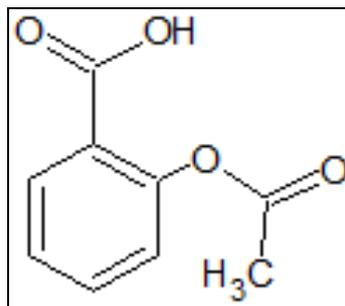


Abb. 3: Strukturformel von Acetylsalicylsäure

Acetylsalicylsäure wurde erstmals im Jahr 1887 synthetisiert, dessen thrombozyteninhibierende Wirkung wurde im Jahr 1954 beschrieben. Der inhibitorische Effekt auf die Thromboxan-Synthese wurde jedoch erst 20 Jahre später aufgeklärt.

ASS hemmt selektiv und irreversibel durch Acetylierung die Aktivität der thrombozytären Cyclooxygenase-1 (COX-1), ein Enzym, welches die Biosynthese von Prostanoiden aus Arachidonsäure katalysiert. (16) (38) Daraus resultiert eine Inhibierung der Prostaglandin H₂-Synthese, wodurch wiederum die Bildung von Thromboxan A₂ und somit auch dessen thrombozytenaggregationsfördernde und vasokonstriktorische Wirkung unterdrückt werden. (16) Es wurden weitere Wirkungsarten von ASS auf die Thrombozytenfunktion beschrieben, wobei deren Rolle zum antithrombozytären Effekt unklar ist. (16) Aspirin wird schnell resorbiert und innerhalb von 60 Minuten kann man die Thrombozyteninhibition messen. Die Plasma-Halbwertszeit von Aspirin beträgt nur 20 Minuten, jedoch bleibt durch die irreversible Hemmung der COX-1- Aktivität der inhibitorische Effekt während der gesamten Lebenszeit (von ca. 8 Tagen) der Blutplättchen erhalten. (16)

Obwohl ASS die Sekretion und Aggregation der Thrombozyten effektiv reduzieren kann, stellt es einen relativ schwachen Thrombozytenfunktionshemmer dar. (38) Eine niedrig dosierte Therapie mit ASS (100mg/d) hat sich als Standard in der Behandlung und Prophylaxe der kardiovaskulären Erkrankungen durchgesetzt. (21) (38)

1.4.2 Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten (GP IIb/IIIa-Rezeptor-Blocker)

Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten sind äußerst wirkungsvolle thrombozytenhemmende Substanzen. Der Fibrinogenrezeptor GP IIb/IIIa stellt zum einen ein ausschließlich auf der Thrombozytenoberfläche vorkommendes Membranglykoprotein dar, zum anderen ist er ein wichtiger Bestandteil der gemeinsamen Endstrecke der Thrombozytenaggregation, unabhängig davon, welche Faktoren die Thrombozytenaktivierung induziert haben. (25) (38) Die Fibrinogenrezeptorantagonisten blockieren die Thrombozyten-Fibrinogen-Vernetzung, indem sie die GPIIb/IIIa auf der Blutplättchenoberfläche irreversibel blockieren. (38) Derzeit werden drei unterschiedliche Klassen von GPIIb/IIIa-Antagonisten unterschieden: (a) Fab-Fragmente eines monoklonalen anti-GPIIb/IIIa-Antikörpers (Abciximab), (b) zyklische GPIIb/IIIa-blockierende Peptide: Eptifibatid (Integrilin®) und (c) synthetische GPIIb/IIIa-hemmende Peptidomimetika (Tirofiban). (38) (40)

Alle hier erwähnten GPIIb/IIIa-Antagonisten stellen ausschließlich intravenös verabreichbare Medikamente dar und werden vor allem bei Hoch-Risiko-Patienten, bei welchen eine perkutane intraluminale Angioplastie (PTCA) durchgeführt wird (v.a. Abciximab) oder beim Auftreten akuter koronarer Thrombosen, eingesetzt. (38) Abgesehen von diesen intravenösen Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten wurden für eine mögliche Langzeittherapie oral verabreichbare Substanzen entwickelt, welche allerdings zu enttäuschenden Ergebnissen in klinischen Studien geführt haben. (38)

1.4.3 ADP-Rezeptor-Antagonisten (Thienopyridine)

Die bisher am meisten eingesetzten und am besten charakterisierten ADP-Rezeptor-Antagonisten sind als P2Y₁₂-Antagonisten die so genannten Thienopyridine. (39) Zu dieser Substanzklasse gehören die Medikamente Ticlopidin (Ticlid[®]) und Clopidogrel (Plavix[®], Iscover[®]) (38) (39), welche als potente Inhibitoren der Thrombozytenaggregation gelten und oft bei Hoch-Risiko-Patienten zur primären und sekundären Prävention eingesetzt werden. (37) Thienopyridine sind „pro-drugs“ und werden durch hepatische Metabolisierung, an der verschiedene Cytochrom P450-Isoenzyme beteiligt sind, in aktive Substanzen umgewandelt. (39) (41) (42) (Abb. 4) Nach erfolgter Resorption werden 85% des Clopidogrels von relativ unspezifischen Carboxylesterasen durch Hydrolyse des Esters in einen pharmakologisch inaktiven Metabolit (Carboxy-Clopidogrel) umgewandelt. Ca. 15% des Arzneistoffs werden durch Oxidation am Thiophenring zu 2-Oxo-Clopidogrel transformiert. (41) (42) Anschließend wird aus 2-Oxo-Clopidogrel der sehr reaktive aber instabile aktive Metabolit, der chemisch als 2-{1-[(1S)-1-(2-Chlorophenyl)-2-Methoxy-2-Oxoethyl]-4-Sulfanyl-3-piperidinyli-diene}-Essigsäure identifiziert wurde, gebildet. (42) Indem der aktive Metabolit mit seiner freien Sulfhydryl-Gruppe kovalente Disulfidbrücken mit einem Cysteinylnrest des P2Y₁₂-Rezeptors bildet, wird der ADP-Rezeptor irreversibel inhibiert. (42) (43) Thienopyridine verringern indirekt durch die Hemmung der Fibrinogenrezeptoraktivierung die Bindung von plasmatischem Fibrinogen an dessen thrombozytären Rezeptor, dem GP IIb/IIIa, und somit die Bildung eines Thrombozytenaggregates. (30)

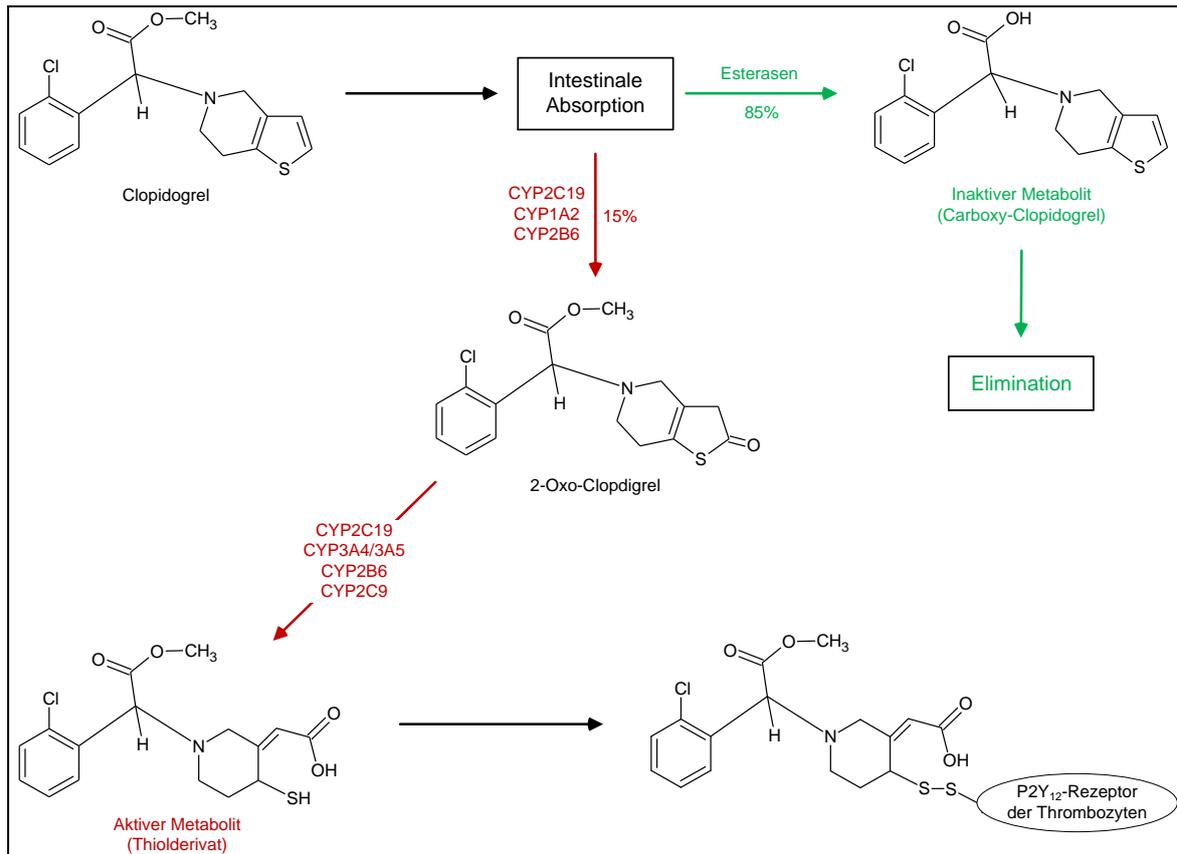


Abb. 4: Metabolismus von Clopidogrel

(modifiziert nach *Pereillo et al. (41)* und *Savi et al. (42)*)

Das erste Thienopyridin, das Ticlopidin, wurde in den achtziger Jahren vor allem als eine Alternative zu Aspirin[®] für die Prävention von zerebralen ischämischen Thrombosen eingeführt. (38) (39) Eine Hemmung der Plättchenaggregation ist innerhalb von zwei Tagen nach Verabreichung von 2x 250 mg Ticlopidin täglich nachweisbar. Das Maximum der Wirkung tritt erst nach 5- bis 8-tägiger Behandlung ein. Die klinische Anwendung von Ticlopidin wird von zahlreichen zum Teil schwerwiegenden unerwünschten Wirkungen begleitet. So können bei mit Ticlopidin behandelten Patienten lebensbedrohliche Blutbildveränderungen wie Neutropenien oder potenziell letal verlaufende Thrombotisch-Thrombozytopenischen Purpura (TTP, Moschcowitz-Syndrom) auftreten. Aus diesem Grund wurde dieses Medikament zumeist nicht länger verabreicht und durch das später entwickelte Clopidogrel ersetzt, (38) (39) da in der CLASSICS- Studie eine deutliche Reduktion der Nebenwirkungen

um 50% bei Patienten nach PCI unter Clopidogrel im Vergleich zu Ticlopidin beobachtet werden konnte. (14)

Clopidogrel wurde im Jahr 1998 in Deutschland zugelassen. Eine maximale Hemmung der Thrombozytenaggregation ist bei täglicher Gabe von 75 mg Clopidogrel, ohne eine Aufsättigungsdosis, erst nach 5 bis 7 Tagen nach der ersten Einnahme zu erwarten. Um einen schnellen Wirkungseintritt zu erzielen, wird die Clopidogrel-Behandlung in der Kardiologie in der Regel durch die Gabe einer Bolusdosis eingeleitet. Nach einer Dosis von 300 mg Clopidogrel wird ein schnellerer Wirkungseintritt beobachtet (ca. nach 24 Stunden), wobei der Wirkungseintritt durch Steigerung der Bolusdosis auf 600 mg Clopidogrel noch weiter beschleunigt werden kann. (44) In einem großen Patientenkollektiv konnte aufgezeigt werden, dass zwei Stunden nach Gabe einer Dosis von 600 mg Clopidogrel im Mittel das Maximum der thrombozyteninhibierenden Wirkung erreicht ist. (45) Eine weitere Steigerung der Bolusdosierung auf 900 mg Clopidogrel zeigt keine weitere Zunahme der plättchenhemmenden Wirksamkeit. (46) Dies bedeutet für die Praxis, dass eine Stentimplantation zwei Stunden nach Gabe einer Aufsättigungsdosis von 600 mg Clopidogrel unter maximaler antithrombozytärer Wirkung durchgeführt werden kann. (44)

In einer Vielzahl groß angelegter klinischer Studien erwies sich Clopidogrel als potente antithrombozytäre Substanz zur sekundären Prävention von ischämischen Thrombosen bei Patienten mit vorangegangenen cerebrovaskulären, koronaren oder peripheren arteriellen akuten klinischen Ereignissen, sowie nach dem Einsetzen einer koronaren endoluminalen Gefäßprothese („Stent“). (30) Die Wirksamkeit von Clopidogrel wurde an 19 185 Patienten in der CAPRIE-Studie untersucht. Dabei wurde Clopidogrel mit Aspirin® bei Patienten mit bereits erlittenem Myokardinfarkt, Schlaganfall oder symptomatischer peripherer arterieller Verschlusskrankheit (pAVK) als Therapie zur Sekundärprophylaxe verglichen. Es konnte gezeigt werden, dass die Effektivität und Tolerierbarkeit dieses Thrombozytenhemmers mit der von Aspirin® vergleichbar, bzw. sogar höher war und etablierte Clopidogrel als ein zu Aspirin® alternatives Medikament für die sekundäre Prävention einer Reihe

kardiovaskulärer Erkrankungen. (47) In der multizentrischen CURE-Studie wurden Patienten mit akutem Koronarsyndrom (instabile Angina pectoris oder Non-ST-Hebungsinfarkt) entweder mit Aspirin[®] plus Clopidogrel oder mit Aspirin[®] plus Placebo behandelt. In der Clopidogrelgruppe erhielten die Patienten eine Auf sättigungs-dosis von 300 mg. Der primäre Endpunkt (Myokardinfarkt, Schlaganfall oder kardio-vaskulärer Tod) wurde in der Aspirin[®] plus Clopidogrel-Gruppe während der drei bis zwölf monatigen Behandlungsdauer signifikant ($p < 0,001$) weniger häufig beobachtet. (48) Die PCI-CURE-Studie umfasste aus der CURE-Studie die Subgruppe von Patienten mit akutem Koronarsyndrom, bei denen eine Koronarintervention durchgeführt wurde. Diese Gruppe profitierte besonders von der dualen Kombinationstherapie. Es wurde eine Reduktion des Endpunktes (s.o.) um 30% erzielt. (49) Auch in der CREDO-Studie konnte bei Patienten mit elektiver PTCA und einer Kombinationstherapie (ASS plus Clopidogrel) im Vergleich zu denjenigen mit einer ASS-Monotherapie eine relative Risikoreduktion für Tod, Myokardinfarkt oder Schlaganfall aufgezeigt werden. (50) In diesen Studien wurde die Überlegenheit der Kombinationstherapie aus Acetylsalicylsäure und Clopidogrel in der Prävention ischämischer Komplikationen nach PTCA mit Stent-Implantation gegenüber der Monotherapie mit Aspirin[®] gezeigt. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde die duale antithrombozytäre Therapie als Standard übernommen. (51) Die empfohlene Therapiedauer beträgt bei Verwendung eines reinen Metallstents (BMS) vier Wochen nach der Intervention, bei Verwendung eines arzneimittelfreisetzenden Stents (DES) 6 bis 12 Monaten nach der Intervention. (51)

1.5 Clopidogrel-Resistenz

In den letzten Jahren wurde bei der Verabreichung von Clopidogrel vermehrt eine interindividuelle Variabilität der antithrombozytären Wirkung beschrieben. (37) (52) (53) (54) (55) (56) Die verschiedenen Autoren prägten dabei die Begriffe „Resistenz“, „Non-/Semi-/Low-Responder“ oder „Hypo-responder“ (53) (54) (57) (58), die jedoch weder klinisch noch labormedizinisch einheitlich definiert sind. Die verfügbaren Daten zeigen, dass bei 4% bis 30% der

Patienten, die mit Clopidogrel behandelt wurden, ein vermindertes Ansprechen auf das Medikament vorliegt. (37) (53) (54) (56) (58) (59) (60) Die Anwendung verschiedener Messmethoden, welche auch unterschiedliche Grenzen für ein suboptimales Ansprechen haben, erschwert zusätzlich den Vergleich verfügbarer Studien und hindert die Übertragbarkeit der Ergebnisse.

Die Ursachen der interindividuellen Variabilität sind weitgehend unklar. Zahlreiche Faktoren können das inadäquate Ansprechen auf Clopidogrel beeinflussen. (37) (61)

- Non-Compliance des Patienten. (60)
- Verminderte gastrointestinale Absorption. (62) (63)
- Verminderter hepatische Metabolisation des Medikaments zu seinen aktiven Metaboliten (59) aufgrund einer reduzierten Cytochrom P450 3A4 Aktivität (63) (64), genetischer Polymorphismen des Cytochrom P450 Enzyms (60) (65) (66) (67) oder einer Interaktion mit anderen durch dieses Enzym verstoffwechselten Substanzen. (60) (68) (69)
- Genetische Polymorphismen im P2Y₁₂- Rezeptor. (60) (63) (70)
- Erhöhte Aktivität alternativer Wege der Thrombozytenaktivierung. (60)
- Ko-Morbidität (Diabetes mellitus, Niereninsuffizienz, Adipositas). (60) (63) (69)
- Rauchen, Alter, Geschlecht. (69)

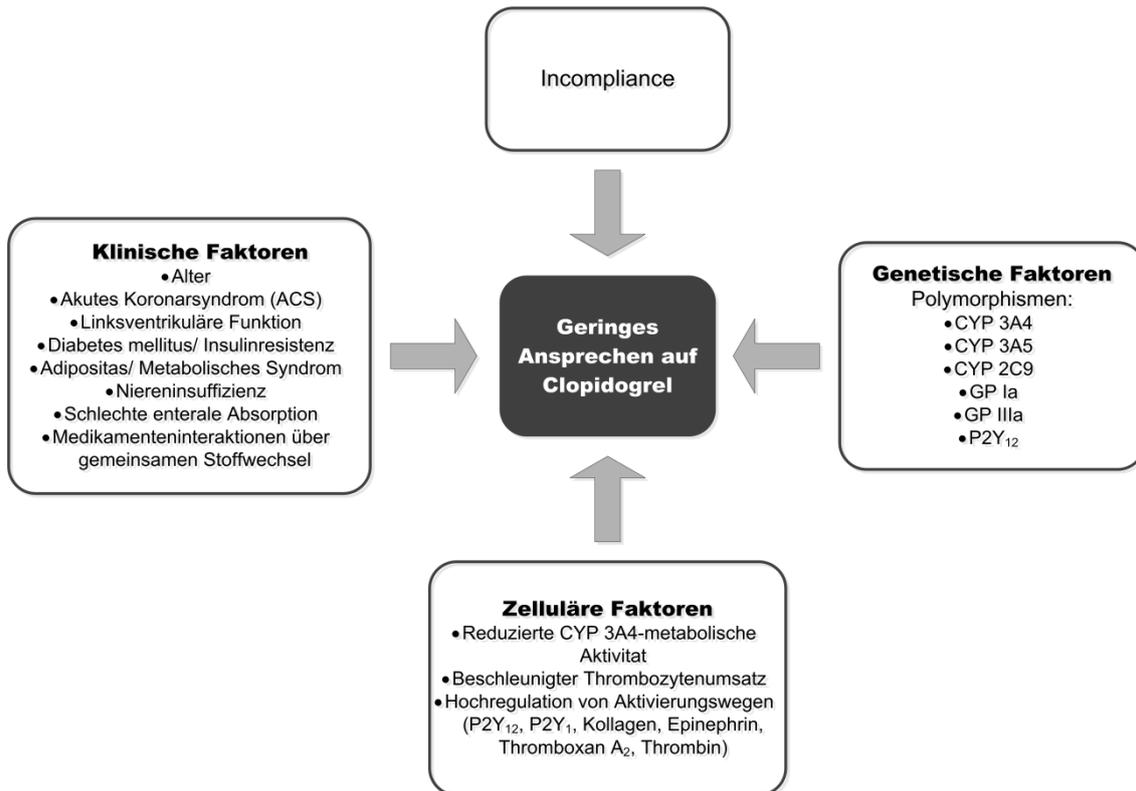


Abb. 5: Faktoren, die das Ansprechen auf Clopidogrel beeinflussen

(modifiziert nach *Geisler et al.* (61))

(Abkürzungen: ACS – Akutes Koronarsyndrom; CYP – Cytochrom P; GP - Glykoprotein)

Ein vereinfachtes und im klinischen Alltag leicht umzusetzendes Modell zur Risikoabschätzung einer erhöhten residualen Thrombozytenaggregation ist der PREDICT („The Residual Platelet Aggregation after Deployment of Intracoronary Stent“) Score, welcher von *Geisler et al.* 2008 entwickelt wurde. (71) Anhand anamnestisch erhobener Patientendaten kann ein Punktestand (engl. „score“) berechnet werden und dadurch eine Aussage über das interindividuelle Ansprechen auf die Clopidogreltherapie getroffen werden. Je höher der Punktestand ist, desto höher ist das Risiko einer suboptimalen Thrombozyteninhibition. Durch eine Intensivierung der antithrombozytären Therapie bei Patienten mit hohem Punktestand kann eine Verbesserung der postinterventionellen Ergebnisse erfolgen. Allerdings werden dabei keine genetischen oder zellulären relevanten Faktoren berücksichtigt.

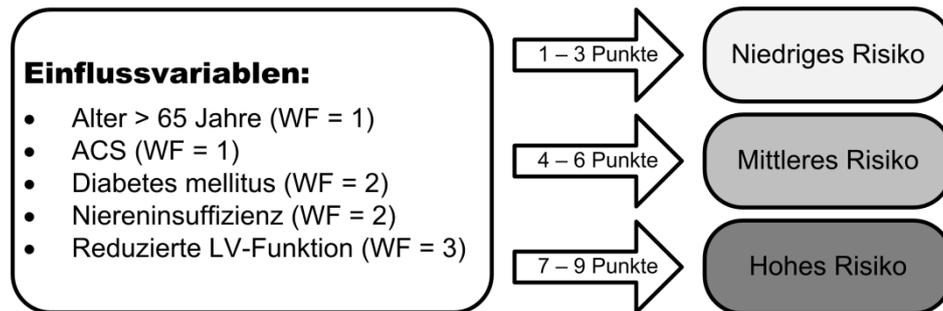


Abb. 6: PREDICT-Score zur Risikoeinschätzung einer erhöhten residualen Aggregation (modifiziert nach Geisler *et al.* (37) und (71))

(Abkürzungen: ACS – Akutes Koronarsyndrom; LV-Funktion – Linksventrikuläre Funktion; WF – Wichtungsfaktor)

Verschiedene Studien zeigen einen Zusammenhang zwischen einem reduzierten Ansprechen auf Clopidogrel und dem Auftreten klinischer Komplikationen. (37) (53) (55) (58) (65) Daher ist es wichtig, Patienten mit nicht adäquater Thrombozytenhemmung frühzeitig zu erkennen, um ihnen eine individuell angepasste Therapie zu ermöglichen und dadurch das mögliche Auftreten ischämischer Komplikationen zu verhindern.

1.6 Adipositas und Body-Mass-Index

Die Prävalenz der Adipositas und des Übergewichts in den meisten Industrieländern bewegt sich geschätzt zwischen 40% und 60%. Gleichzeitig sind mehr als 50% der Erwachsenen in Westeuropa übergewichtig oder sogar adipös, was eine Erhöhung zwischen 10% und 40% in den verschiedenen europäischen Ländern in der letzten Dekade entspricht. (72) In Deutschland zählt ebenfalls die Mehrheit der Bevölkerung als übergewichtig, etwa 20% sind adipös. (73) Als Risikofaktoren hierfür zählen familiäre Disposition, Stress, Essstörungen, endokrine Erkrankungen, Medikamente, Bewegungsmangel und Fehlernährung. (73)

Übergewicht und Adipositas sind mit verschiedenen metabolischen Unregelmäßigkeiten wie Dyslipidämie, Hypertriglyceridämie, postprandiale Hyperglykämie und Insulinresistenz verbunden. (74) (75) (76) Die Adipositas wird heute auch als ein begünstigender Faktor für chronische Inflammation

angesehen. (77) Dies ist auch an dem erhöhten Spiegel von CRP, TNF- α und IL-6 erkennbar. IL-6 führt durch Unterdrückung des Insulin-Signalwegs zu einer erhöhten Insulinresistenz. (77) Da Insulin einen anti-inflammatorischen Effekt besitzt, wird durch die erhöhte Resistenz die Inflammation, sowie die Entstehung von Diabetes mellitus Typ 2 begünstigt. (77) Dadurch wird die Inflammation zu einem wichtigen Bindeglied zwischen der Atherosklerose und Risikofaktoren für Ihre Entstehung wie Adipositas und Diabetes mellitus Typ 2. Das Fettgewebe besitzt teilweise die Funktion eines endokrinen Organs und schüttet verschiedene bioaktive Substanzen wie Leptin aus. (77) Durch die erhöhte Produktion von Leptin bei Adipositas stellt sich ein prothrombotischer Zustand ein, der mit Abnormalitäten in der Koagulation, Thrombozytenfunktion und der Fibrinolyse assoziiert ist. (74) (77) (78)

Anhand des BMI werden Patienten in Abhängigkeit vom Gewicht als unter-, normal-, übergewichtig oder adipös klassifiziert. (79) Der Body-Mass-Index (BMI) bezieht das Körpergewicht auf die Körperoberfläche und wird durch die folgende Formel berechnet:

$$BMI = \frac{\text{Körpergewicht [kg]}}{\text{Körpergröße [m}^2\text{]}}$$

Die unterschiedlichen Kategorien basieren auf der WHO-Definition und definieren sich wie folgt: (79)

Tabelle 1: Gewichtsklassifikation anhand des BMI

BMI (kg/m ²)		Kategorie
≥	<	
	18,5	Untergewicht
18,5	25	Normalgewicht
25	30	Übergewicht
30	35	Adipositas Grad I
35	40	Adipositas Grad II
40		Adipositas Grad III

1.7 Fragestellung

In zahlreichen Studien wurde die Effektivität der antithrombozytären Therapie mit Clopidogrel zur Reduktion kardiovaskulärer Ereignisse bei Patienten nach einer Stentimplantation belegt. Allerdings haben sich in den letzten Jahren auch die Hinweise auf ein interindividuelles Ansprechen auf das Medikament gehäuft. Es wurden Begriffe wie „Non-“ oder „Hypo-Responder“ geprägt. Ein erhöhtes Risiko für Myokardinfarkt, Stent-Thrombose und Tod bei Patienten mit einem suboptimalen Ansprechen auf Clopidogrel konnte nachgewiesen werden. (80) Obwohl es keine genaue Definition der Clopidogrel-Resistenz gibt, ist es wichtig die verschiedenen Faktoren, welche die Wirksamkeit des Medikaments beeinflussen, zu identifizieren. Die vorliegende Arbeit befasst sich damit, den Zusammenhang zwischen dem BMI des Patienten und der individuellen antithrombozytären Wirkung von Clopidogrel indirekt mittels Messung der Thrombozytenaggregabilität gegenüber Agonisten, auf die das Medikament wirkt, näher zu charakterisieren.

2 Material und Methodik

2.1 Material

2.1.1 Patientenkollektiv

Von September 2007 bis Oktober 2008 wurden an der Medizinischen Universitätsklinik Tübingen (Abteilung III, Ärztlicher Direktor: Prof. M. Gawaz) 157 Patienten konsekutiv auf das Ansprechen auf Clopidogrel untersucht. Als Einschlusskriterien galt eine symptomatische koronare Herzerkrankung mit anschließender elektiver oder akuter Implantation mindestens eines koronaren Stents, sowie ein Alter > 18 Jahre. Alle Patienten mit bekannten Thrombozytenfunktionsstörungen, Thrombozytopenie ($<10^5$ Zellen/ μl), einer bestehenden Schwangerschaft, Stillzeit, schwerer Leberinsuffizienz, sowie einer bekannten allergische Reaktionen auf ASS und/oder Clopidogrel wurde aus der Studie ausgeschlossen.

Alle in dieser Studie eingeschlossenen Patienten erhielten vor der PTCA eine Clopidogrelaufsättigungsdosis von 600 mg und 500 mg ASS i.v. Daraufhin folgte eine Erhaltungstherapie mit einer täglichen oralen Dosis von 75 mg Clopidogrel für mindestens einen Monat (und maximal 12 Monaten) sowie 100 mg ASS. Die Mehrheit der Patienten war bereits mit einer Dauertherapie mit 100 mg ASS täglich vorbehandelt. Patienten, die eine Behandlung mit Fibrinogenrezeptorantagonisten erhielten, wurden frühestens nach einer Woche gemessen, um eine Beeinflussung der Messung durch die thrombozytenhemmende Wirkung von GP IIb/IIIa-Rezeptorantagonisten auszuschließen.

Die Diagnose eines akuten Koronarsyndroms (ACS) wurde nach den offiziellen Leitlinien gestellt. Dies erfolgte von einem verblindeten Untersucher, bevor es bekannt wurde, wie der Patient auf die antithrombozytäre Therapie mit Clopidogrel anspricht. Für die Diagnosestellung eines ACS musste eines der folgenden Kriterien erfüllt sein (17):

- Instabile Angina Pectoris (IAP): klinische Symptome wie Thoraxschmerzen und neu aufgetretene EKG-Veränderungen, jedoch ohne Anstieg von Troponin T oder I.
- Akuter Myokardinfarkt: Anstieg der herzspezifischen Enzyme (wie Troponin oder CK-MB). Der Myokardinfarkt wird anhand der EKG-Veränderungen in ST-Hebungsinfarkt (STEMI) und Nicht-ST-Hebungsinfarkt (NSTEMI) unterteilt.

Die Diagnose einer stabilen Angina Pectoris (SAP) wurde bei Patienten gestellt, die über regelmäßige belastungsabhängige Thoraxschmerzen, die gut auf Nitrate ansprachen, klagten. (17)

Weitere statistisch relevante Patientendaten wurden anhand der Patientenakte erhoben.

Das Studienprotokoll wurde durch die Ethikkommission der Eberhard Karls Universität Tübingen genehmigt (Ethiknummer: 77/2005V). Nach einem ausführlichen Gespräch wurde die Einwilligung der Patienten durch eine Unterschrift auf der Einverständnisaufklärung dokumentiert.

2.1.2 Geräte und verwendete Materialien

- Blood collection tube 4,5 ml TI, bestehend aus:
Monovette neutral/ 4,5 ml
[SARSTEDT Aktiengesellschaft & Co., Nürnberg Deutschland]
plus TI (Trombininhibitor)
[Dynabyte GmbH, Munich Germany]
- Venisystem™ Butterfly® -21
[Hospira, Inc., Lake Forest, IL 60045 USA]
- Multi-Adapter
[SARSTEDT Aktiengesellschaft & Co., Nürnberg Deutschland]

- Multiplate[®]-Messzellen
[Dynabyte GmbH, Munich Germany]
- Multiplate[®] -Vorwärmröhrchen
[Dynabyte GmbH, Munich Germany]
- Multiplate[®] e-line Pipette
[Dynabyte GmbH, Munich Germany]
- Pipettenspitzen zur Multiplate[®] e-line Pipette
[Dynabyte GmbH, Munich Germany]
- Aliquotgefäße
[Dynabyte GmbH, Munich Germany]
- Ampuwa[®] 50ml
[Fresenius Kabi GmbH, Deutschland]
- Isotonische Kochsalzlösung Fresenius
[Fresenius Kabi GmbH, Deutschland]
- Multiplate[®] ADP-Test
ADP, lyophilisiert (0,2 mM); ohne Aliquotiergefäße
Reagenz zur Thrombozytenfunktionsanalyse am Multiplate[®]-System
[Dynabyte GmbH, Munich Germany]
- Multiplate[®]-System
Model 02, SN:100276
[Dynabyte GmbH, Munich Germany]
- 15-Inch LCD Color Monitor HP
Model: L 1506
[Hewlett Packard, Houston USA]
- Drucker
HP LaserJet 1020

HP LaserJet P3005n

[Hewlett Packard, Houston USA]

- Software für Multiplate[®]-Messungen
Multiplate[®] platelet function analysis V2.02.11
[Dynabyte GmbH, Munich Germany]
Microsoft[®] Windows XP Professional
- Software zur Datenverarbeitung und Ergebnisauswertung
Microsoft[®] Excel
Microsoft[®] Word
SPSS 19.0 für Windows

2.2 Methodik

2.2.1 Blutentnahme

Bei jedem Patienten wurden zwei Blutentnahmen durchgeführt. Die erste Blutentnahme erfolgte vor der Herzkatheteruntersuchung, d.h. vor der Gabe der initialen Dosis von 600 mg Clopidogrel und 500 mg Aspirin[®]. Die zweite Blutprobe wurde frühestens sechs Stunden nach der Gabe der Clopidogrelaufsättigungsdosis, in den meisten Fällen am Folgetag (Median 26,7 Stunden) abgenommen. Dadurch wurde ein ausreichender thrombozytenhemmender Effekt gewährleistet. (45) Zur Blutentnahme wurde eine 4,5 ml Monovette benutzt, die Hirudin als Antikoagulans enthielt, um einen Kalziumentzug zu verhindern. Kalzium ist ein sehr wichtiger „second Messenger“ bei der Thrombozytenaktivierung, deshalb kann ein Entzug des freien Kalziums zu fehlerhaften Ergebnissen der Impedanzaggregometrie führen.

2.2.2 Impedanzaggregometrie mittels Multiplate®-System

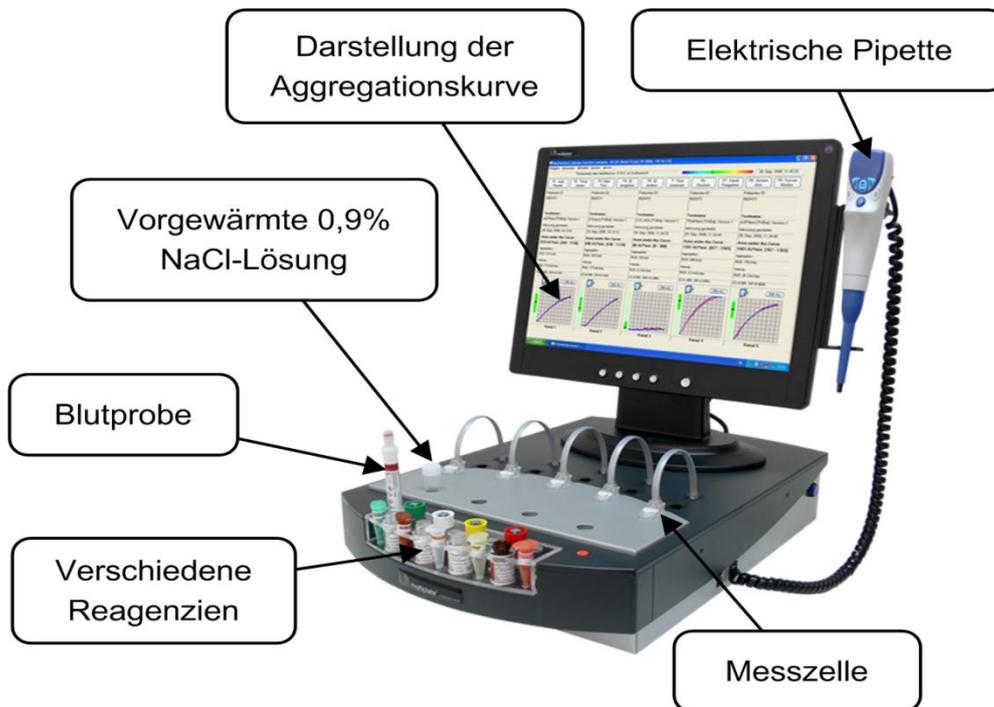


Abb. 7: Übersicht über das Multiplate®-Gerät

(Quelle: Leitfaden Multiplate®, zur Verfügung gestellt durch Dr. Andreas Calatzis, Abteilung für Transfusionsmedizin und Hämostaseologie Klinikum der Universität München; modifiziert)

(Abkürzungen: PTFE – Polytetrafluorethylen, NaCl – Natriumchlorid)

Das Multiplate®-System (Abb. 7) (abgeleitet von „multiple platelet function analyser“) der Firma Dynabyte Medical (München, Deutschland) stellt eine neue, zu der photometrischen Aggregometrie konkurrente Methode zur Bestimmung der Thrombozytenfunktion im Vollblut dar. (81) (82) Das Gerät basiert auf Weiterentwicklung der Impedanzaggregometrie, die in den 80er Jahren von Cardinal und Flower vorgestellt wurde. (83) Das Besondere an dem neuen System besteht darin, dass die Aggregation, genauso wie im menschlichen Organismus, auf der Oberfläche stattfindet.

Das Messprinzip der Multiplate®-Analyse liegt daran, dass unter normalen Bedingungen die Thrombozyten inaktiv und frei beweglich im Blut zirkulieren. Aber bei Aktivierung durch diverse Agonisten exponieren sie Rezeptoren an ihrer Oberfläche, mit welchen sie an Gefäßverletzungen, sowie an körperfremden Oberflächen adhären.

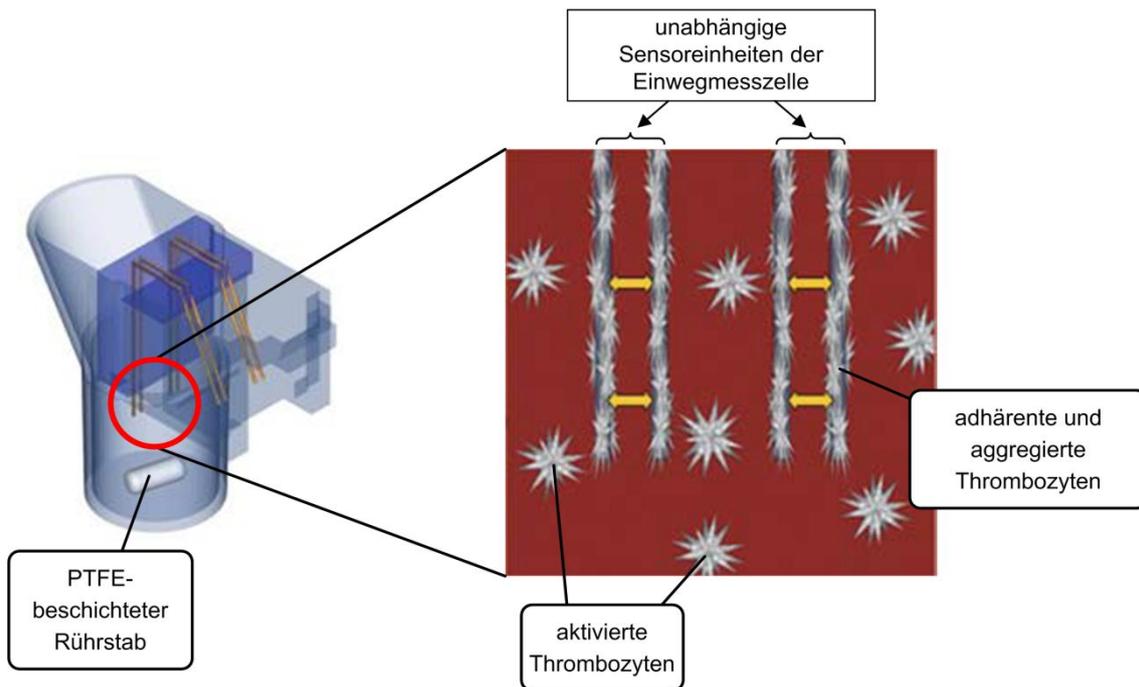


Abb. 8: Detaillierte Darstellung der Multiplate®-Messzelle

(Quelle: Leitfaden Multiplate®, zur Verfügung gestellt durch Dr. Andreas Calatzis, Abteilung für Transfusionsmedizin und Hämostaseologie Klinikum der Universität München; modifiziert)

(Abkürzungen: PTFE – Polytetrafluorethylen)

Die Impedanzaggregometrieanalyse findet in einer Einweg-Messzelle statt. Die Messzelle besitzt zwei voneinander unabhängige silberbeschichtete Sensoreinheiten (Elektrodenpaar aus Kathode und Anode), die für eine interne Qualitätskontrolle jeder einzelnen Messung sorgen, sowie einen Polytetrafluorethylen (PTFE)-beschichteten Rührstab. (Abb. 8) Die schon aktivierten Thrombozyten haften fest an der Sensoroberfläche der Multiplate®-Messzelle an. Dadurch erhöht sich der elektrische Widerstand (Impedanz) zwischen Kathode und Anode. Dieser Widerstand stellt ein Maß für die Plättchenaggregation dar. (Abb. 9) Die Zunahme des elektrischen Widerstandes wird mittels Wechselspannung an den beiden Sensoreinheiten kontinuierlich und gegen die Zeit aufgezeichnet. Mit Hilfe der Software des Multiplate®-Systems wird die Fläche unter der Aggregationskurve („Area under the curve“ - AUC) berechnet. Sie ist ein Maß für die Thrombozytenaggregation im Verhältnis zu der Zeit.

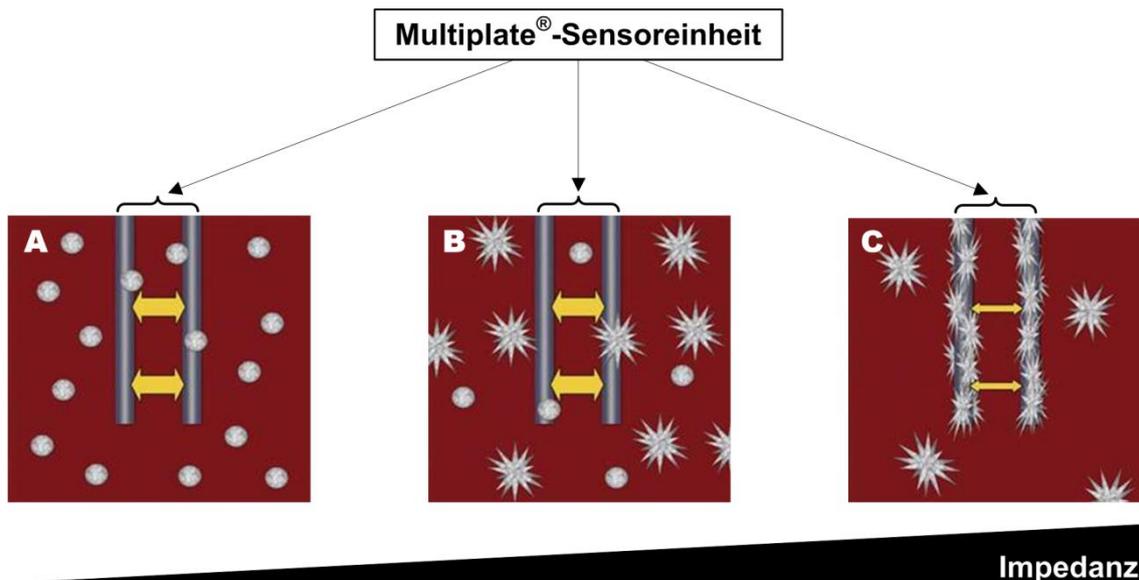


Abb. 9: Vorgänge an Anode und Kathode in der Multiplate®-Messzelle

(Quelle: Leitfaden Multiplate®, zur Verfügung gestellt durch Dr. Andreas Calatzis, Abteilung für Transfusionsmedizin und Hämostaseologie Klinikum der Universität München; modifiziert)

A: Nicht aktivierte, athrombogene Thrombozyten zirkulieren frei in der Multiplate®-Messzelle. **B:** Nach Zugabe eines Plättchenagonisten werden die Thrombozyten aktiviert und fangen an, die Sensoroberfläche (Elektrodenpaar aus Kathode und Anode) der Multiplate®-Sensoreinheit zu adhären. **C:** Die aggregierten Thrombozyten bilden eine Isolationsschicht auf der Sensoroberfläche und erhöhen dadurch den Widerstand (Impedanz) zwischen den Elektroden.

Durch die unterschiedlichen zur Verfügung stehenden Thrombozytenagonisten können die Thrombozytenfunktion sowie die Medikamenteneffekte differenziert analysiert werden. In dieser Studie wurde ADP (ADP-Test) verwendet. Als Agonist stimuliert ADP die Thrombozyten über die ADP-Rezeptoren. Der wichtigste ADP-Rezeptor ($P2Y_{12}$) wird durch Clopidogrel und andere Thienopyridine blockiert. Somit spricht eine normwertige oder nahezu normwertige Aggregation beim ADP-Test für eine unvollständige Blockade der ADP-Rezeptoren durch Clopidogrel. Dieses Phänomen wird als eine „Clopidogrel-Non-Response“ bezeichnet. Eine Einnahme von Aspirin® führt typischerweise nicht zu einer Hemmung im ADP-Test.

Frühestens 30 Minuten und maximal 3,5 Stunden nach der Blutentnahme wurde die Messung am Multiplate®-Analyzer durchgeführt. Für jede dieser Messungen wurde die Multiplate® elektronischen E-line-Pipette genutzt. Sie

ist für jeden Schritt der Messung auf die notwendige Menge der Reagenzien vorprogrammiert.

Am Anfang wurden 300µl 0,9% NaCl zusammen mit 300µl Vollblut in einer Multiplate®-Messzelle pipettiert. Nach der drei-minütigen Inkubation bei 37°C wurde 20µl des Thrombozytenaktivators (ADP für ADP-Test) zugegeben. Danach erfolgte eine sechs-minütigen Messung der Impedanz. Während der gesamten Messung wurden die Reagenzien mit Hilfe des magnetischen Polytetrafluorethylen-beschichteten Rührstabs mit 800 Umdrehungen pro Minute vermischt. Nach Beendigung der Messung wurden zwei Aggregationskurven auf dem Bildschirm angezeigt. Zusätzlich zu der „Area under the curve“-Angabe wurde auch der Unterschied zwischen den beiden Einzelmessungen angegeben. Bei zu großer Abweichung erfolgte eine Fehlermeldung und die Messung wurde wiederholt. Zur Weiterverarbeitung der Ergebnisse wurde jede korrekte Messung ausgedruckt.

Das Multiplate®-System zeichnet die Aggregationskurve kontinuierlich auf. Die Zunahme der Impedanz an der Sensoreinheiten wird in die frei gewählten „Aggregation Units“ umgerechnet und gegen die Zeit aufgezeichnet. Die Fläche unter der Aggregationskurve („Area under the curve“ - AUC) wird berechnet. Sie ist von der Geschwindigkeit der Aggregation, sowie von der maximal erreichten Aggregation abhängig. Zusätzlich wird die Aggregation (maximale Höhe der Kurve) und die Velocity (maximale Steigung der Kurve) berechnet. Diese beiden Parameter sind nur für Forschungszwecke bestimmt, deshalb werden sie mit dem Zusatz RUO („Research Use Only“) ausgegeben. (Abb. 10)

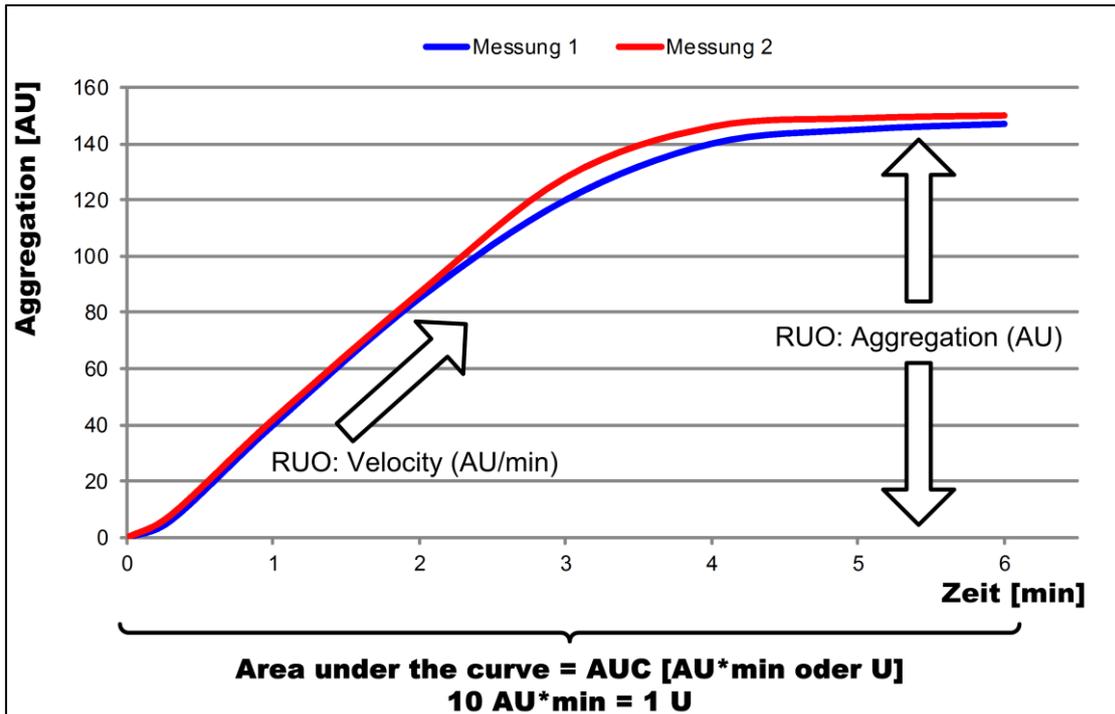


Abb. 10: Aggregometrie Kurve, gemessen mittels Multiplate®-Analyser

(Quelle: Leitfaden Multiplate®, zur Verfügung gestellt durch Dr. Andreas Calatzis, Abteilung für Transfusionsmedizin und Hämostaseologie Klinikum der Universität München; modifiziert)

(Abkürzungen: AU: von engl. „Aggregation Units“ - Aggregationseinheiten; AUC: von engl. „Area under the Curve“ - Fläche unter der Kurve; min. - Minute; U: von engl. „Unit“ - Bezeichnung für eine bestimmte Einheit; RUO: von engl. „Research Use Only“ – nur für Forschungszwecke“)

Die AUC stellt ein Flächenmaß dar, dessen Einheit AU*min ist. Da die Werte für eine normwertige Aggregation relativ hoch sind (500-1500 AU*min), ist diese Einheit für den Alltag ungeeignet. Aus diesem Grund bietet die Software des Systems die Möglichkeit, die AUC in eine neue Einheit – Units „U“ umzurechnen, wobei die neuen Werte gegenüber der Einheit „AU*min“ durch zehn geteilt werden.

Die untenstehende Abbildung zeigt die Thrombozytenaggregation bei verschiedenen Patienten.

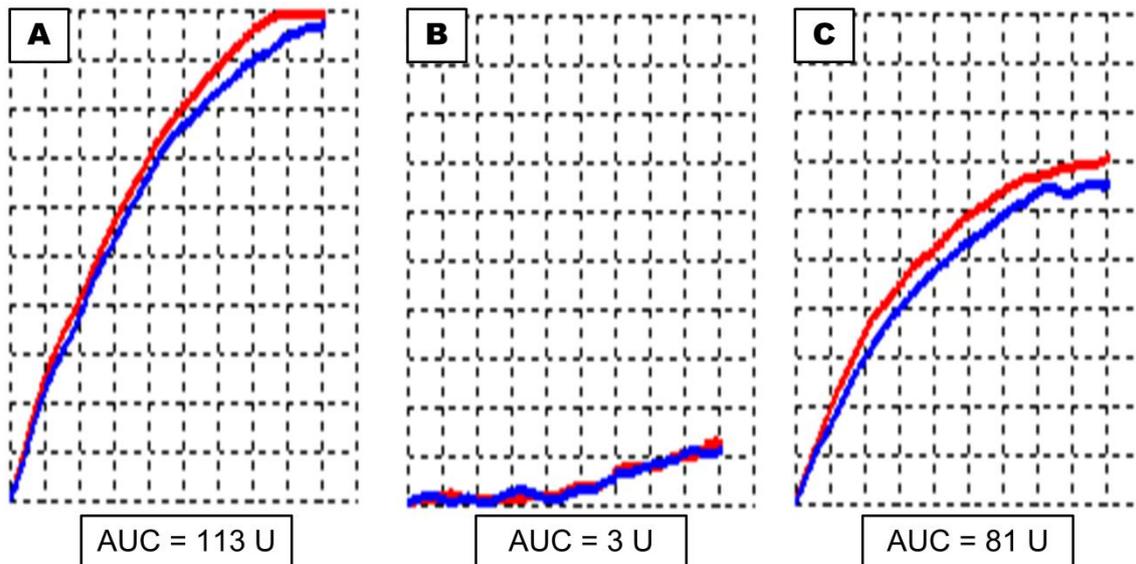


Abb. 11: Beispiele für unterschiedliche Thrombozytenaggregation

(Quelle: Leitfaden Multiplate[®], zur Verfügung gestellt durch Dr. Andreas Calatzis, Abteilung für Transfusionsmedizin und Hämostaseologie Klinikum der Universität München; modifiziert)

A: Normwertige Aggregation im ADP-Test bei einem nicht vorbehandelten gesunden Probanden. **B:** Aggregation eines Patienten, der auf Clopidogrel anspricht. **C:** Aggregation eines Patienten, dessen Thrombozyten (im Vergleich zu **B**) nicht ausreichend durch Clopidogrel gehemmt sind und der als „Non-/Low-Responder“ bezeichnet wird.

(Abkürzungen: U: von engl. „Unit“ - Bezeichnung für eine bestimmte Einheit)

2.2.3 Body-Mass-Index (BMI)

Der Body-Mass-Index (BMI) wurde nach folgender Formel berechnet:

$$BMI = \frac{\text{Körpergewicht [kg]}}{\text{Körpergröße [m}^2\text{]}}$$

Das Körpergewicht und die Körpergröße des Patienten wurden der Patientenakte entnommen.

2.3 Statistische Auswertung

Das Patientenkollektiv wurde in zwei Gruppen unterteilt: Patienten mit BMI < 25 und solche mit BMI ≥ 25. Zur Überprüfung der Normalverteilung der Merkmale (BMI, Thrombozytenaggregationswerte) wurde einen Kolmogorov-Smirnov-Test und Shapiro-Wilk-Test durchgeführt.

Kategorische Patientenmerkmale (Geschlecht, Diagnose ACS/SAP zum Zeitpunkt der Studienaufnahme, kardiovaskuläre Risikofaktoren, Vorerkrankungen, Medikation) sind in Anzahl der Fälle, sowie in Prozentsätzen angegeben. Die Prozentsätze sind von den tatsächlich zur Verfügung stehenden Angaben über das Merkmal berechnet und beziehen sich nicht auf die gesamte Anzahl der Patienten. Zur dichotomen Analyse der kategorischen Variablen wurde der Chi-Quadrat-Test verwendet. Die Angabe der quantitativen Patientenmerkmale (Alter, BMI) erfolgte in Mittelwert \pm Standardabweichung. Mittelwerte zweier normal verteilter Merkmale wurden mit einem zweiseitig unpaarigen t-Test verglichen.

Die Prävalenz des „Clopidogrel-Responder“-Status wurde anhand visuellen Klassierens mit Tertilbildung dargestellt. Zur Charakterisierung des Zusammenhangs zwischen dem BMI der Patienten und dem Ansprechen auf die Clopidogreltherapie wurde der Wilcoxon-Rangsummentest (Mann-Whitney-U-Test) herangezogen. Eine exakte zweiseitige Signifikanz wurde dadurch berechnet. Die nicht normalverteilten Thrombozytenaggregationswerte wurden als Mediane \pm Interquartilabstände angegeben. Graphisch wurde dieser Zusammenhang mittels Boxplots dargestellt. Zur weiteren Beschreibung dieses Zusammenhangs wurde eine bivariate Korrelation mit Berechnung des Spearman Rank-Koeffizienten durchgeführt. Eine multivariate Regressionsanalyse wurde zur Identifizierung anderer Einflussfaktoren auf die Wirksamkeit der antithrombozytären Therapie mit Clopidogrel angewandt.

Alle angegebenen Signifikanzen sind zweiseitig. Ein p-Wert $< 0,05$ wurde als statistisch signifikant angesehen. Zur statistischen Analyse der vorliegenden Daten wurde das Softwareprogramm SPSS, Version 19 für Windows (SPSS, Chicago, USA) verwendet.

3 Ergebnisse

3.1 Charakterisierung der Studienpopulation

In der vorliegenden Studie wurden insgesamt 157 Patienten, die akut oder elektiv eine Stentimplantation erhielten, in der Zeit von September 2007 bis Oktober 2008 konsekutiv untersucht.

Mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov- und Shapiro-Wilk-Tests erfolgte zuerst eine Überprüfung der Thrombozytenaggregationswerte auf Normalverteilung. Diese Werte sind nicht normal verteilt (Parametrisch).

Zur Analyse der Wirksamkeit der antithrombozytären Therapie mit Clopidogrel in Abhängigkeit von dem Faktor BMI wurde das Patientenkollektiv anhand des zu untersuchenden Faktors in zwei Gruppen aufgeteilt. Bei der stationären Aufnahme wurden das Gewicht und die Größe jedes Patienten erhoben und anhand der oben dargestellten Formel der BMI berechnet. Von den untersuchten Patienten hatten 37 (23,57 %) einen BMI unter 25 und 120 (76,43 %) einen BMI gleich oder größer 25 (Abb. 12).

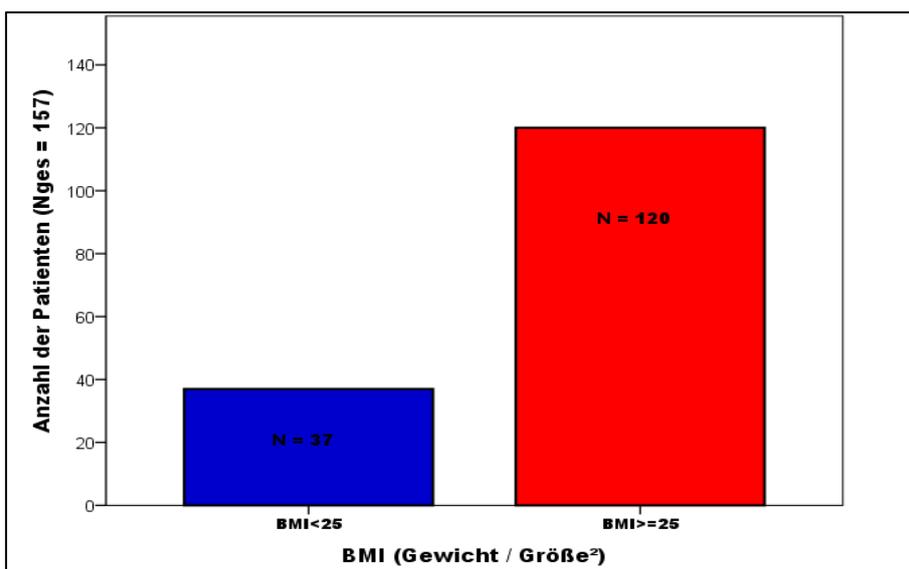


Abb. 12: Absolute Anzahl der Patienten mit BMI < 25 und BMI ≥ 25 in der gesamten Studienpopulation zum Zeitpunkt der stationären Aufnahme

(Abkürzungen: BMI – Body-Mass-index; N – Anzahl der Patienten)

Weitere Charakterisierungsmerkmale der Studienpopulation wie Alter, Geschlecht, kardiovaskuläre Risikofaktoren, Vorerkrankungen und Medikamentenanamnese sind aus **Tabelle 2** ersichtlich.

Tabelle 2: Patientencharakteristika der Studienpopulation

(Abkürzungen: ACE – Angiotensin-Converting-Enzym; ACS – akutes Koronarsyndrom; ASS - Aspirin®; AT₁ – Angiotensin 1; BMI – Body-Mass-Index; β – Beta; Ca²⁺ - Kalziumionen; M – Mittelwert; n – Anzahl der Patienten; PPI – Protonpumpeninhibitoren; SAP – stabile Angina Pectoris; SD – von engl. „standard deviation“ – Standardabweichung)

Patientenmerkmale	BMI<25 n=37	BMI≥25 n=120	Gesamt n=157	p-Wert	Anzahl bekannter Fälle
Alter - Jahre (M ±SD)	75,5 ± 9,2	67,8 ± 10,7	69,6 ± 10,8	0,08	157
BMI (M±SD)	23,25 ± 1,43	29,38 ± 4,01	27,93 ± 4,42		
Geschlecht - Anzahl (%)				0,89	157
Männlich	27 (73,0%)	89 (74,2%)	116 (73,9%)		
Weiblich	10 (27,0%)	31 (25,8%)	41 (26,1%)		
Diagnose bei Aufnahme - Anzahl (%)				0,49	157
ACS	17 (45,9%)	63 (52,5%)	80 (51,0%)		
SAP	20 (54,1%)	57 (47,5%)	77 (49,0%)		
Kardiovaskuläre Risikofaktoren - Anzahl (%)					
Arterielle Hypertonie	31 (83,8%)	97 (82,2%)	128 (82,6%)	0,83	155
Diabetes Mellitus	6 (16,2%)	85 (29,9%)	41 (26,6%)	0,1	154
Hyperlipidämie	17 (45,9%)	89 (76,1%)	106 (68,8%)	0,001	154
Nikotin	10 (27,0%)	58 (48,3%)	68 (43,3%)	0,02	157
Familiäre Disposition	5 (13,5%)	25 (21,4%)	30 (19,5%)	0,29	154
Myokardinfarkt	9 (24,3%)	38 (32,5%)	47 (30,5%)	0,35	154
Anamnese - Anzahl (%)					
<i>Koronare Herzerkrankung</i>	37 (100%)	117 (99,1%)	154 (99,3%)		155
1-Gefäß	12 (32,4%)	28 (23,7%)	40 (25,8%)	0,75	
2-Gefäß	8 (21,6%)	36 (30,5%)	44 (28,4%)		
3-Gefäß	17 (45,9%)	53 (44,9%)	70 (45,2%)		
<i>Linksventrikuläre Funktion</i>					143
normal > 50 %	16 (48,5%)	57 (51,8%)	73 (51,0%)		
leicht reduziert ≤ 50 %	7 (21,2%)	24 (21,8%)	31 (21,7%)	0,62	
mittel reduziert ≤ 40 %	4 (12,1%)	15 (13,6%)	19 (13,3%)		
schwer reduziert ≤ 30 %	6 (18,2%)	14 (12,7%)	20 (14,0%)		
Niereninsuffizienz	8 (21,6%)	23 (19,7%)	31 (20,1%)	0,8	154
Vorhofflimmern	10 (27,0%)	16 (13,7%)	26 (16,9%)	0,06	154

Tabelle 3: Fortsetzung: Patientencharakteristika der Studienpopulation

(Abkürzungen: ACE – Angiotensin-Converting-Enzym; ACS – akutes Koronarsyndrom; ASS - Aspirin®; AT₁ – Angiotensin 1; BMI – Body-Mass-Index; β – Beta; Ca²⁺ - Kalziumionen; M – Mittelwert; n – Anzahl der Patienten; PPI – Protonpumpeninhibitoren; SAP – stabile Angina Pectoris; SD – von engl. „standard deviation“ – Standardabweichung)

Patientenmerkmale	BMI<25 n=37	BMI≥25 n=120	Gesamt n=157	p-Wert	Anzahl bekannter Fälle
Medikation - Anzahl (%)					
Marcumar	6 (16,2%)	21 (17,8%)	27 (17,4%)	0,83	155
ASS	37 (100%)	114 (96,6%)	151 (97,4%)	0,26	155
β-Blocker	29 (78,4%)	109 (92,4%)	138 (89%)	0,02	155
AT ₁ -Antagonist	11 (29,7%)	19 (16,1%)	30 (19,4%)	0,07	155
ACE-Hemmer	19 (51,4%)	93 (78,8%)	112 (72,3%)	0,001	155
Ca ²⁺ -Kanal-Antagonisten	3 (8,1%)	20 (16,9%)	23 (14,8%)	0,19	155
Diuretika	19 (51,4%)	74 (62,7%)	93 (60,0 %)	0,22	155
Aldosteroninhibitor	5 (13,5%)	23 (19,5%)	28 (18,1%)	0,41	155
Insulin	1 (2,7%)	11 (9,3%)	12 (7,7%)	0,19	155
PPI	12 (39,9%)	38 (40,4%)	50 (40,3%)	0,13	124
Statine	33 (89,2%)	102 (88,7%)	135 (88,8%)	0,93	152

Zur Überprüfung des „Clopidogrel-Responder“-Status wurde das Patientenkollektiv anhand der nach Gabe einer initialen Clopidogrel-aufsättigungsdosis gemessenen ADP-induzierten Thrombozytenaggregation in Tertilen aufgeteilt. (Abb. 13) Durch Tertilbildung ergeben sich Bereiche, die ein geringes, mittleres und gutes Ansprechen auf eine Therapie mit Clopidogrel darstellen.

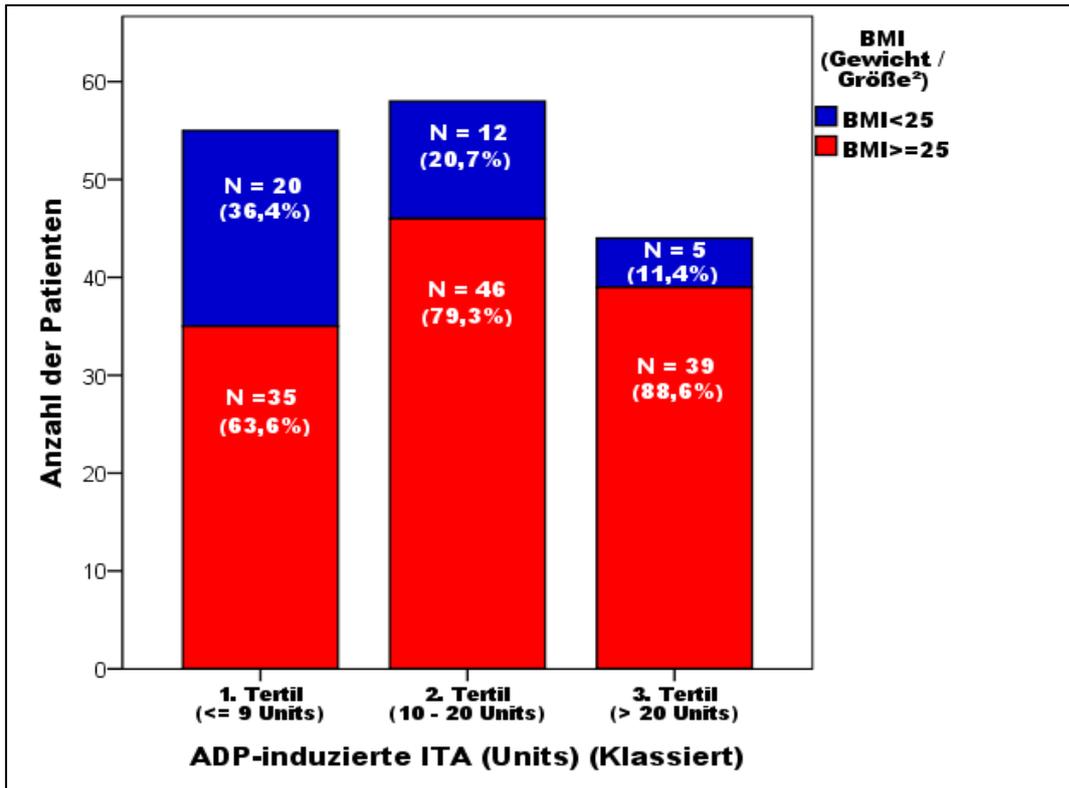


Abb. 13: Prävalenz des „Clopidogrel-Responder“-Status

(Die Prozentangaben beziehen sich auf den jeweiligen Tertil)

(Abkürzungen: ADP – Adenosindiphosphat; BMI – Body-Mass-Index; ITA – Impedanzthrombozytenaggregation; N – Anzahl der Patienten)

Das 1. Tertil (Tertilgrenze: 0-9 Units) stellt den Teil der Patienten dar, die eine gute Thrombozytenaggregationshemmung durch Clopidogrel aufweisen. Im Gegensatz dazu zeigten die 44 Patienten (28%), die sich im 3. Tertil (Tertilgrenze: > 20 Units) befindet, ein geringeres Ansprechen auf die Therapie mit Clopidogrel. Diese Patienten wurden als Clopidogrel „low Responder“ definiert. Beim Vergleichen der Patienten im 1. und 3. Tertil wird ersichtlich, dass der Anteil der Patienten im 3. Tertil, die einen BMI \geq 25 haben, 25% höher ist als der Anteil der gleichen Patienten im 1. Tertil (88,6% vs. 63,6%).

3.2 Prätherapeutisch und Posttherapeutisch gemessene Thrombozytenaggregation in Abhängigkeit vom BMI der Patienten im Vergleich

Die initiale (prätherapeutische) ADP-induzierte Thrombozytenaggregation wurde mittels Multiplate[®]-Impedanzaggregometrie bei allen in der Studie eingeschlossenen Patienten (n = 157) vor Gabe der initialen Aufsättigungsdosis von 600 mg Clopidogrel bestimmt.

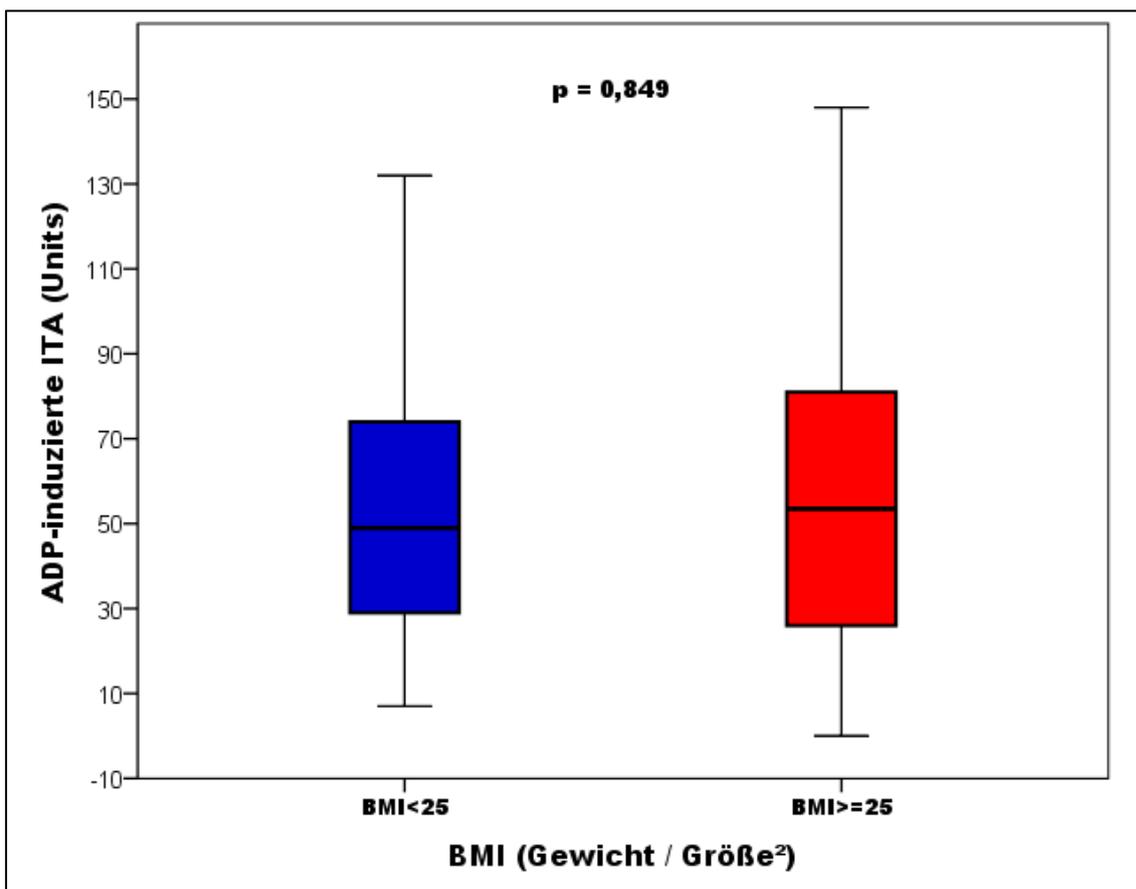


Abb. 14: Prätherapeutische Messung der Thrombozytenaggregation

(Abkürzungen: ADP – Adenosindiphosphat; ITA – Impedanz-Thrombozytenaggregation)

Es zeigte sich, dass das prätherapeutisch gemessene Ausgangsniveau der Aggregation in beiden Gruppen (Patienten mit BMI < 25 und solche mit BMI ≥ 25) größtenteils gleich ist, da die exakte zweiseitige Signifikanz nach dem Mann-Whitney-U-Test $p = 0,849$ (Abb. 14) beträgt und auf keinem Niveau signifikant ist.

Nach Verabreichung der initialen Clopidogrelaufsättigungsdosis wurde die posttherapeutische ADP-induzierte Thrombozytenaggregation mittels Multiplate[®]-System gemessen. Dies erfolgte frühestens 6 Stunden nach Erhalt von Clopidogrel, im Median nach 26,7 Stunden.

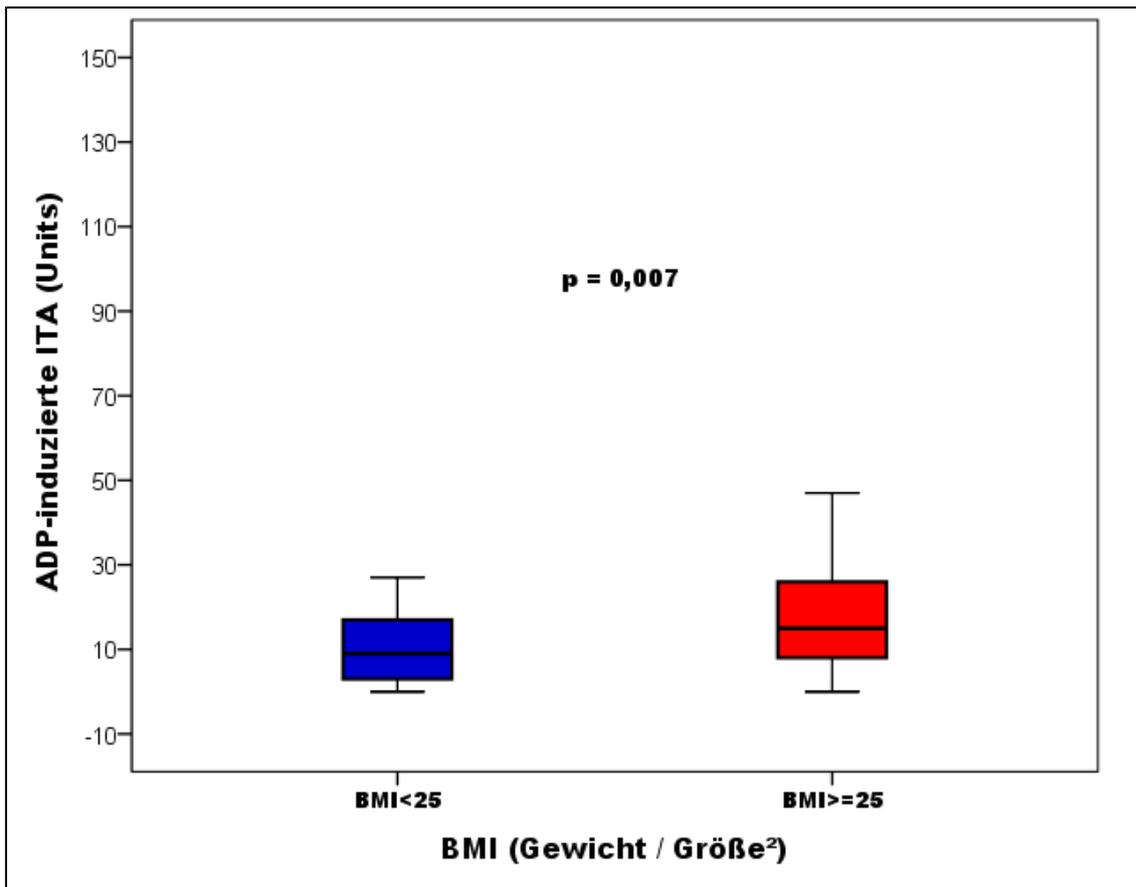


Abb. 15: Posttherapeutische Messung der Thrombozytenaggregation

(Abkürzungen: ADP – Adenosindiphosphat; ITA - Impedanzthrombozytenaggregation)

Dabei zeigte sich, dass Patienten mit BMI ≥ 25 ein signifikant höheres Aggregationsniveau ($p = 0,007$) im Vergleich zu Patienten mit BMI < 25 haben. Die zweiseitige Signifikanz wurde nach dem Mann-Whitney-U-Test berechnet.

Zum Prüfen des Zusammenhangs zwischen den posttherapeutisch gemessenen Aggregationswerten und dem BMI des jeweiligen Patienten wurde im Studienkollektiv ($n = 157$) eine bivariate nichtparametrische (die ADP-induzierte Aggregationswerte sind nicht normal verteilt) Korrelation

durchgeführt. Der Spearman Rangkorrelationskoeffizient (r_s) beträgt $r_s = 0,26$. Er ist auf dem $p < 0,01$ Niveau signifikant ($p = 0,001$). Da $r_s > 0$ ist, bedeutet dies, dass zwischen den untersuchten Patientenmerkmalen ein gleichsinniger Zusammenhang besteht. Ein hoher BMI des Patienten korreliert mit einem hohen Messergebnis der posttherapeutisch gemessenen ADP-induzierten Thrombozytenaggregation.

Eine multivariate Regressionsanalyse wurde durchgeführt, um eine Assoziation zwischen den posttherapeutisch gemessenen Aggregationswerten (abhängige Variable) und verschiedenen Einflussfaktoren (unabhängige Variablen) zu überprüfen. Als mögliche Einflussfaktoren wurden Alter und Geschlecht der Patienten, verschiedene kardiovaskuläre Risikofaktoren (Adipositas – dargestellt durch den BMI der Patienten, Hyperlipidämie, Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie, Nikotinkonsum), die linksventrikuläre Funktion der Patienten sowie die Diagnose (ACS/ SAP) zum Zeitpunkt der Aufnahme in der Studie angenommen. Die so durchgeführte multivariate Regressionsanalyse zeigte, dass der BMI sich als einziger unabhängiger Einflussfaktor auf die posttherapeutisch gemessene Thrombozytenaggregationswerte darstellt.

4 Diskussion

Die kardiovaskulären Erkrankungen stehen nach wie vor an erste Stelle der Todesursache in den Industrieländern. Die koronare Herzerkrankung als eine der häufigsten kardiovaskulären Erkrankungen ist durch eine hohe Prävalenz und Mortalität gekennzeichnet. Daraus resultiert ihre enorme epidemiologische Bedeutung. Nicht zuletzt spielt die KHK auch aus wirtschaftlichen Gründen eine wichtige Rolle. Deshalb erstreckt sich die Prävention dieser Erkrankung auf alle Ebenen. Dadurch hat in den letzten 20 Jahren auch die perkutane transluminale Koronarangioplastie an Bedeutung gewonnen. Mittlerweile gehört sie zu den wichtigsten Therapieformen der Koronarstenosen, sowie auch anderen Gefäßverengungen aufgrund der Atherosklerose. Hinzugekommen ist auch das Einsetzen von Stents, was ein bedeutender Schritt in der Tertiärprävention ist. Mit dessen Hilfe wurden eine deutliche Reduktion der Wiederverschlüsse und eine damit verbundene verbesserte Prognose für die Patienten erreicht. Eine wichtige Rolle in der Pathogenese der Atherosklerose und damit der KHK, sowie der Entstehung thrombotischer Komplikationen, spielen die Thrombozyten. Dies erklärt, warum eine effektive antithrombozytäre Therapie so unabdingbar ist. Besonders in Stresssituationen, die ein akutes Koronarsyndrom oder eine PTCA mit anschließender Stentimplantation darstellen, kommt es zu einer erhöhten Aktivierbarkeit der Blutplättchen. Deshalb ist eine duale Therapie aus Aspirin und Clopidogrel, deren Vorteil in vielen klinischen Studien belegt ist (47) (48) (49) (50), heutzutage Standard in der Kardiologie bei Patienten nach PTCA. (51) Clopidogrel als ein ADP-Rezeptorantagonist hemmt effektiv die Thrombozytenaktivierung und Aggregation. Dennoch treten schwerwiegende kardiovaskuläre Ereignisse wie ein Myokardinfarkt, ein ischämischer Insult oder Tod nicht selten auf. Immer mehr Hinweise deuten auf ein interindividuell unterschiedliches Ansprechen auf Clopidogrel hin (56) (37), welches ein erhöhtes Risiko für diverse kardiovaskuläre Ereignisse darstellt. (55) (58)

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die konsekutive Untersuchung der eingeschlossenen Patienten, die elektiv oder akut eine Implantation mindestens

eines koronaren Stens erhalten haben, auf das Ansprechen auf Clopidogrel und im Besonderen der Charakterisierung des Zusammenhangs zwischen dem BMI des einzelnen Patienten und einem nicht adäquaten Ansprechen.

Zur ex-vivo Messung der ADP-induzierte Thrombozytenaggregation wurde die Methode der Impedanzaggregationsanalyse gewählt. Obwohl das Multiplate[®]-System eine Neuentwicklung ist und die Lichttransmissionsaggregometrie immer noch den Goldstandard darstellt, beruht die Methodik dieser Thrombozytenfunktionsanalyse auf einem schon lange bekannten Prinzip. (81) (83) Ein wesentlicher Unterschied des Multiplate[®]-Systems sowohl zu der LTA, als auch zu den anderen derzeit eingesetzten Aggregationmessmethoden liegt darin, dass der Aggregationsvorgang wie im menschlichen Organismus, beispielsweise an rupturierter atherosklerotischer Plaque oder nach einer Stentimplantation, an der Oberfläche stattfindet. Dies ermöglicht eine Messung der Aggregation unter nahezu physiologischen Bedingungen.

Das Multiplate[®]-System bietet im Vergleich zu den anderen Methoden der Thrombozytenaggregationsmessung und im Besonderen zu der LTA viele Vorteile: Man benötigt keine Zentrifugation; die Messung der Thrombozytenaggregation ist bereits nach sechs Minuten abgeschlossen; einfache Handhabung des Systems durch Verwendung von Einweg-Messzellen und der elektrischen Pipette; die Ergebnisse sind doppelt überprüft und daher zuverlässig. Des Weiteren ermöglicht das Multiplate[®]-System die Durchführung von mehreren, parallel verlaufenden Tests und die Erfassung der Effekte nicht nur von Clopidogrel, sondern auch von anderen Plättchenhemmern (z.B. Aspirin[®] oder GP IIb/IIIa-Rezeptor-Blocker - ReoPro[®]). (84) Dadurch erleichtert sich die Anwendung des Multiplate[®]-Analyzers im klinischen Alltag. Trotz der Unterschiede zwischen dem Goldstandard LTA und der Impedanzaggregometrie korrelieren die Ergebnisse beider Messmethoden gut miteinander. (82) (85) All dies kann zum Einsetzen des Multiplate[®]-Systems zur individuellen Bestimmung des Ansprechens auf die antithrombozytären Therapie mit Clopidogrel oder anderen Aggregationsinhibitoren führen.

Die Messung der ADP-induzierte Thrombozytenaggregation wurde zwei Mal durchgeführt. Das erste Mal wurde die Bestimmung vor der Erstverabreichung von Clopidogrel vorgenommen, um bereits mit einem ADP-Rezeptor-Blocker vorbehandelte Patienten zu identifizieren. Das zweite Mal fand die Impedanzaggregometrie nach Gabe einer Aufsättigungsdosis von 600mg Clopidogrel statt. Der gewählte Zeitpunkt der Messung ist von immenser Bedeutung für die Beurteilung eines geringen Ansprechens auf Clopidogrel, da sich der maximale plättchenhemmende Effekt in Abhängigkeit von der Initialdosis (600 mg oder 300 mg) nach 2-4h, bzw. nach 24 h. zeigt. (45) (46) In dieser Studie wurde die Thrombozytenaggregation mindestens 6h nach Erhalt der Aufsättigungsdosis (600 mg Clopidogrel) gemessen. Dadurch konnte sichergestellt werden, dass die maximale Thrombozytenfunktionshemmung erreicht wurde.

In dieser Studie wurde der Body-Mass-Index gewählt, obwohl es in der Literatur immer mehr Hinweise gibt, dass dieser nicht genau den Fettgehalt und die Fettverteilung des Körpers abbildet und es bessere Maße gibt, um diese Parameter zu beurteilen. (86) Allerdings gibt es Gründe, die für das Verwenden des BMI sprechen. Noch immer bezieht sich die WHO-Definition und -Einteilung der Adipositas auf den BMI. Des Weiteren ist der BMI unabhängig vom Geschlecht und gilt als universaler und meist untersuchter Parameter der Adipositas.

Clopidogrel ist ein inaktiver Metabolit. Dieser benötigt zunächst eine CYP-abhängige, hepatische Biotransformation, um danach mit seinem aktiven Metabolit seine Wirkung als irreversibler P2Y₁₂-Rezeptor-Antagonist entfalten zu können. *Kastrati et al.* konnten zeigen, dass die verabreichte Dosis gut mit der maximalen Clopidogrelkonzentration im Plasma korreliert. (63) Dennoch konnten *Serebruany et al.* ein interindividuell unterschiedliches Ansprechen auf Clopidogrel feststellen. (56) In der Literatur finden sich ganz unterschiedliche Angaben zu der Prävalenz eines suboptimalen Ansprechens auf die Therapie mit Clopidogrel. In den bisher publizierten Daten konnte bei bis zu 30% der behandelten Patienten ein vermindertes Ansprechen auf Clopidogrel gezeigt

werden. (53) (54) (56) Dies ist durch die verschiedenen Verfahren zur Thrombozytenaggregationsmessung bedingt. Zusätzlich ist der Studienvergleich durch das Fehlen einer klinischen und laborchemisch einheitlichen Definition der Clopidogrel-Wirksamkeit eingeschränkt.

In der vorliegenden Studie konnten 44 Patienten, welche 28% vom Gesamtkollektiv darstellen, durch Tertilbildung als so genannten "low Responder" identifiziert werden. Daher korreliert das Ergebnis dieser Studie gut mit den Angaben in der Literatur. Ein Hinweis auf die mögliche Ursache des verminderten Ansprechens auf Clopidogrel bietet Abb. 13 an. Daraus ist ein gleichsinniger proportionaler Zusammenhang zwischen der Wirksamkeit der Clopidogreltherapie und dem Anteil an übergewichtigen Patienten ersichtlich.

Schon seit einigen Jahren wird der Zusammenhang zwischen Adipositas, Inflammation, Thrombozytenfunktion und Atherosklerose untersucht. Dabei ist es wichtig die Auswirkungen von Adipositas auf die Plättchenfunktion und -Reaktionbereitschaft zu charakterisieren, denn nach neueren Erkenntnissen ist Adipositas mit einer proinflammatorischen und prothrombotischer Situation im menschlichen Organismus assoziiert. Das Hauptziel dieser Studie ist daher, den Body-Mass-Index als Einflussfaktor hinsichtlich der Effektivität einer antithrombozytären Therapie zu überprüfen.

Beim Vergleichen des prä- und posttherapeutisch gemessenen Aggregationsniveaus wird ersichtlich, dass das Ausgangsniveau der Thrombozytenaggregation unabhängig vom Körpergewicht der Patienten ist ($p = 0,849$). Die Probenanalyse nach Gabe der Aufsättigungsdosis von 600mg Clopidogrel zeigt signifikant höhere Thrombozytenaggregationswerte im Kollektiv der adipösen Patienten ($p = 0,007$). Die durchgeführte bivariate Korrelation bestätigte den gleichsinnigen Zusammenhang zwischen Adipositas und höheren Thrombozytenaggregationswerten ($r_s = 0,26$; $p = 0,001$).

Einige Studien der vergangenen Jahre bestätigten ebenfalls die in dieser Studie erkennbare Assoziation zwischen „Clopidogrel – Response“ und BMI. (87) (88) (89) (90) *Fehler et al.* verglichen 2006 die Patientencharakteristika bei Patienten

mit einer guten Thrombozyteninhibition durch Clopidogrel mit solchen, die ein suboptimales Ansprechen hatten. Sie fanden eine effektive Plättcheninhibition bei Patienten mit signifikant niedrigerem BMI (26,1 versus 28,8 kg/m², p < 0,05). Nach der Durchführung einer Regressionsanalyse blieb der BMI als einzige Einflussvariable auf das Clopidogrel-Ansprechen (Odds Ratio: 2,62; 95% KI: 1,71 – 3,6; p < 0,01). (87) *Sibbing et al.* (88) untersuchten 2007 den Effekt von BMI auf die Plättchenaggregation nach Gabe einer Initialdosis von 600mg Clopidogrel. Die Probenanalyse wurde 2 Stunden nach Erhalt des Medikaments durchgeführt, allerdings vor der Intervention. Die Thrombozytenaggregation wurde mittels LTA als Antwort auf ADP gemessen (5 und 20 µM). Sie fanden eine signifikant höhere ADP-induzierte Plättchenaggregation bei den adipösen Patienten im Vergleich zu den normalgewichtigen Patienten (46,0 ± 21,8% versus 38,2 ± 19,3% für ADP 5 µM, p = 0,0007; 55,1 ± 22,7% versus 45,2 ± 21,7% für ADP 20 µM, p < 0,0001). *Diehl et al.* zeigten 2009 ebenfalls, dass Adipositas ein Risikofaktor für suboptimales Ansprechen auf Clopidogrel darstellt. (89) 2010 analysierte *Sarno et al.* (90) den Effekt vom BMI auf das klinische Outcome nach 1 Jahr. Die Patienten wurden in 3 Gruppen entsprechend ihrem BMI eingeteilt: normalgewichtig (< 25 kg/m²), übergewichtig (BMI zw. 25 und 30 kg/m²) und adipös (> 30 kg/m²). Sie stellten fest, dass der BMI ein unabhängiger Einflussfaktor für das erhöhte Risiko eines kardiovaskulären Ereignisses (8,7% in der normalgewichtigen Gruppe, 11,3% bei den übergewichtigen Patienten und 14,5% bei den adipösen Patienten, p = 0,01) ein Jahr nach der Intervention darstellt. Der BMI wurde als unabhängiger Einflussfaktor für eine Stentthrombose nach einem Jahr identifiziert (Hazard ratio 1,47; 95% KI: 1,02 - 2,14; p = 0,04). Jedoch gab es auch Studien wie die PREDICT-Studie von *Geisler et al.* (71) oder *Gaglia et al.* (91), die keine Assoziation zwischen dem BMI und der Wirksamkeit von Clopidogrel feststellen konnten.

Die Beziehung zwischen Adipositas und der reduzierten Thrombozytenaggregation nach einer Clopidogrel-Therapie ist komplex. Einerseits kommt eine Unterdosierung des Medikaments in Frage. Clopidogrel unterliegt einer hepatischen Metabolisierung. Das inaktive Medikament wird durch CYP-450-

abhängige hepatische Biotransformationen in seinen aktiven Metabolit umgewandelt. Dieser Metabolit hat eine lipophile Struktur, welche die Diffusion in das Fettgewebe erleichtert. Dadurch reduziert sich die effektive Konzentration von Clopidogrel in adipösen Menschen. Die gleiche Beobachtung machten *Fehler et al.* (87) Andererseits kann sich eine verminderte Aktivität des CYP 3A4 in einem verminderten Ansprechen widerspiegeln. Es zeigte sich, dass die Enzyme CYP 3A4 und CYP 3A5 im Gegensatz zu anderen CYP-450-abhängigen Enzymen am meisten an der Clopidogrel-Metabolisierung beteiligt sind. (92) *Lau et al.* haben sogar in gesunden Probanden eine interindividuell unterschiedliche metabolische CYP 3A4-Aktivität bewiesen. Eine herabgesetzte CYP 3A4-Aktivität bei adipösen Menschen wurde von *Kotlyar and Carson* beobachtet (93). Wichtig sind auch die bekannten genetischen Polymorphismen von CYP 3A4 und CYP 2C19, die zu einer verminderten Enzymaktivität führen können (64) (66) (67), sowie die Gen-Variationen von P2Y₁₂, die auch bei gesunden Probanden gefunden wurden (70) und in einer gesteigerten Thrombozytenaggregation erkennbar werden. (65) (66) Unabhängig vom Gewicht der Patienten resultieren diese Polymorphismen in einer inadäquaten Clopidogrelwirkung. Eine andere mögliche Erklärung für das suboptimale Ansprechen bei den adipösen Patienten kann die erhöhte Basisreaktivität der Plättchen bedingt durch den erhöhten Spiegel des zytoplasmatischen Kalziums der Thrombozyten sein. (94) Nicht zuletzt ist Adipositas mit einer erhöhten inflammatorischen Lage assoziiert. Das Fettgewebe ist die Hauptquelle für viele proinflammatorischen Chemokine, wie IL-6 oder TNF- α , welche zu erhöhter Leukozytenzahl bei adipösen Menschen führen. *Diehl et al.* (89) fanden eine gleichsinnige Beziehung zwischen der erhöhten Leukozytenzahl und dem verminderten Ansprechen auf Clopidogrel. Interleukin 6 spielt auch eine Rolle in der Modulation des CRP-Spiegels, wodurch die proinflammatorische und prothrombotische Lage im Organismus begünstigt wird (90). Des Weiteren setzt das Fettgewebe Leptin frei, dessen Rezeptor auf den Thrombozyten identifiziert worden ist. (95) Auf diese und andere Weisen kann Adipositas zu einer Plättchenaktivierung führen. Das Ergebnis ist eine Beeinträchtigung des Ansprechens auf die antithrombozytäre Therapie mit Clopidogrel. Tatsächlich

sind andere antithrombozytären Substanzen wie Heparin oder Glykoprotein IIb/IIIa-Antagonisten, im Gegensatz zu Clopidogrel, an das Gewicht angepasst.

In der Literatur wird die Auswirkung von der Begleitmedikation sowie von Begleiterkrankungen auf das Ansprechen auf Clopidogrel diskutiert. Im untersuchten Kollektiv leiden die adipösen Patienten signifikant häufiger an Hyperlipidämie im Vergleich zu den normalgewichtigen Patienten ($p = 0,001$). Eine parallele Begleitmedikation mit Statinen als lipidsenkende Therapie ist in Bezug auf die Clopidogrelwirkung kontrovers diskutiert. *Lau et al.* zeigten 2003 (96), dass Statine aufgrund desselben Metabolisierungswegs wie Clopidogrel zu einem inadäquaten Ansprechen führen. Jedoch konnten *Geisler et al.* im Jahr 2008 diesen Effekt nicht bestätigen. (97) (98) In der vorliegenden Studie wurde keinen signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen in der Einnahme von Statinen ($p = 0,93$) gefunden und somit konnte kein Einfluss auf die Clopidogrelwirkung durch die Statine festgestellt werden.

Eine wichtige Begleiterkrankung, die mit Adipositas assoziiert ist, ist Diabetes mellitus. Ein Einfluss von Diabetes auf das Ansprechen von Clopidogrel ist in der Literatur beschrieben worden. (99) (100). Im Patientenkollektiv dieser Studie gibt es keinen signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen bezüglich der Anzahl der Patienten, die an Diabetes leiden. Genauso konnte in der multivariaten Regressionsanalyse kein signifikanter Einfluss von Diabetes auf das Ansprechen von Clopidogrel gefunden werden. In der multivariate Analyse bestand keine signifikante Assoziation zwischen den anderen erfassten kardiovaskulären Risikofaktoren, sowie dem Alter und dem Geschlecht und der Clopidogrelwirkung. Der BMI wurde als einziger unabhängiger Einflussfaktor auf das Ansprechen auf die Therapie mit Clopidogrel identifiziert.

Mehrere Studien konnten zeigen, dass ein vermindertes Ansprechen auf die Therapie mit Clopidogrel zu einer signifikant höheren Rate an kardiovaskulären Ereignissen bei diesen Patienten führt. (37) (55) (58) Hinzu kommt die unklare Lage in der Literatur bezüglich der Einflussfaktoren auf die Clopidogrelwirkung. Insgesamt zeigt sich ein interindividuelles Ansprechen auf Clopidogrel mit der Folge, dass bei Patienten mit einem inadäquaten Ansprechen eine

kardiovaskulär risikoreiche klinische Prognose besteht. Dies lässt die Dringlichkeit erkennen, ein geeignetes Screening verfahren zu etablieren, um Patienten mit inadäquatem Ansprechen auf die antithrombozytäre Therapie zu identifizieren und auf alternative Behandlungen zurückzugreifen, um so die klinischen Prognose bei diesen Patienten zu verbessern.

Eine Alternative für die Patienten mit reduziertem Ansprechen auf Clopidogrel kann die Erhöhung der Aufsättigungs- oder der Erhaltungsdosis sein. In der Literatur ist umstritten, ob mit einer Steigerung der Initialdosis von 600 mg auf 900 mg ein verbesserter thrombozytenhemmender Effekt zu erreichen ist. (101) (102) Der zusätzliche inhibierende Effekt einer höheren Erhaltungsdosis muss gegen das gesteigerte Blutungsrisiko abgewogen werden. Andere Möglichkeiten wären die zusätzliche Gabe vom GP IIb/IIIa-Rezeptor-Inhibitoren oder das Umsteigen auf andere ADP-Rezeptor-Antagonisten – wie z.B. Prasugrel oder Ticagrelor.

Als wichtige Gründe für die nicht einheitliche Studienlage sind die verschiedenen Messverfahren, sowie der gewählte Zeitpunkt der Aggregationsbestimmung zu nennen. Die Unterschiede in den Patientenkollektiven erschweren zusätzlich die Vergleichbarkeit der Studien. In dieser Studie werden sowohl Patienten mit akutem Koronarsyndrom (ACS), als auch solche mit stabiler Angina Pectoris (SAP) eingeschlossen. In manchen Studien sind nur Patienten mit akutem Geschehen gewählt. Des Weiteren sind die Anzahl sowie die Art der Stents öfters nicht berücksichtigt. Als wichtiger uneinheitlicher Faktor im Patientenkollektiv ist die Vorbehandlung mancher Patienten mit Clopidogrel anzusehen. Die Höhe der Clopidogrel-Aufsättigungsdosis ist ebenfalls von Studie zur Studie variierend.

Die Ergebnisse dieser Studie legen nahe, dass ein nicht adäquates Ansprechen auf die antithrombozytäre Therapie mit Clopidogrel nach einer Stentimplantation durch das erhöhte Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse ein im klinischen Alltag relevantes Problem ist und insbesondere Patienten mit hohem BMI von einer reduzierten Clopidogrelwirksamkeit betroffen sind.

5 Zusammenfassung

Es ist bekannt, dass ein Teil der Patienten, die an KHK leiden und bei denen eine Stentimplantation vorgenommen wurde, nicht adäquat auf die antithrombozytäre Therapie mit Clopidogrel ansprechen. In der Literatur gibt es Hinweise, die auf einen Zusammenhang zwischen dem BMI des Patienten und der Wirksamkeit von Clopidogrel deuten. Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Charakterisierung dieses Zusammenhangs. 157 Patienten, die eine koronare Stentimplantation erhielten, wurden konsekutiv mittels Multiplate®-Impedanz-Aggregometrie untersucht. Vor der Intervention wurde allen Patienten eine Aufsättigungsdosis von 600 mg Clopidogrel verabreicht. Die Bestimmung der ADP-induzierten Thrombozytenaggregation wurde vor der Gabe der Initialdosis, sowie ein zweites Mal mindestens sechs Stunden nach Clopidogrelgabe gemessen. Das Patientenkollektiv bestand aus 37 normalgewichtigen (BMI < 25), sowie 120 übergewichtigen Patienten (BMI ≥ 25). Anhand von Tertilbildung erfolgte die Bestimmung der so genannten „low“-Responder. Während das Ausgangsniveau der Thrombozytenaggregation unabhängig vom Gewicht der Patienten war ($p = 0,849$), zeigten sich zwischen den beiden Gruppen statistisch signifikante Unterschiede in den postinterventionell gemessenen Aggregationswerten ($p = 0,007$). Dies wurde durch die nichtparametrische Korrelation zwischen dem BMI des Patienten und der nach Gabe von 600 mg Clopidogrel bestimmten Thrombozytenaggregationswerte ($r_s = 0,26$, $p = 0,001$) bestätigt. Durch die Regressionsanalyse konnte ein erhöhter BMI als Einflussfaktor bestätigt werden, zugleich wurden andere klinischen Faktoren als mögliche Einflussfaktoren ausgeschlossen. Letztlich ist davon auszugehen, dass Patienten mit einem hohen BMI reduziert auf die Therapie mit Clopidogrel ansprechen. Wie in der Literatur beschrieben, haben solche Patienten ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse insbesondere nach koronaren Interventionen. Für den klinischen Alltag kann es von Vorteil sein, eine Überprüfung der Wirksamkeit der Clopidogrel-Therapie durchzuführen, um diesen Patienten eine alternative antithrombozytäre Therapie anzubieten.

6 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Verlauf der Atherosklerose (modifiziert nach <i>Libby, P. (3)</i>)	9
Abb. 2: Übersicht über die ADP-Rezeptoren auf der Thrombozytenoberfläche und den Wirkungsmechanismus von Clopidogrel (modifiziert nach <i>Geisler et al. (37)</i>).....	18
Abb. 3: Strukturformel von Acetylsalicylsäure	19
Abb. 4: Metabolismus von Clopidogrel (modifiziert nach <i>Pereillo et al. (41)</i> und <i>Savi et al. (42)</i>)	22
Abb. 5: Faktoren, die das Ansprechen auf Clopidogrel beeinflussen (modifiziert nach <i>Geisler et al. (61)</i>)	26
Abb. 6: PREDICT-Score zur Risikoeinschätzung einer erhöhten residualen Aggregation (modifiziert nach <i>Geisler et al. (37)</i> und (71))	27
Abb. 7: Übersicht über das Multiplate [®] -Gerät.....	34
Abb. 8: Detaillierte Darstellung der Multiplate [®] -Messzelle	35
Abb. 9: Vorgänge an Anode und Kathode in der Multiplate [®] -Messezelle	36
Abb. 10: Aggregometriekurve, gemessen mittels Multiplate [®] -Analyzer	38
Abb. 11: Beispiele für unterschiedliche Thrombozytenaggregation	39
Abb. 12: Absolute Anzahl der Patienten mit BMI < 25 und BMI ≥ 25 in der gesamten Studienpopulation zum Zeitpunkt der stationären Aufnahme	41
Abb. 13: Prävalenz des „Clopidogrel-Responder“-Status	44
Abb. 14: Prätherapeutische Messung der Thrombozytenaggregation.....	45
Abb. 15: Posttherapeutische Messung der Thrombozytenaggregation	46

7 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Gewichtsklassifikation anhand des BMI.....	28
Tabelle 2: Patientencharakteristika der Studienpopulation.....	42
Tabelle 3: Fortsetzung: Patientencharakteristika der Studienpopulation	43

8 Literaturverzeichnis

1. **Ross, R.** Atherosclerosis - an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999, 340: 115-126.
2. **Lusis, AJ.** Atherosclerosis. *Nature.* 2000, 407: 233-241.
3. **Libby, P.** Inflammation in atherosclerosis. *Nature.* 2002, 420: 868 - 874.
4. **Alber, HF, Suessenbacher, A and Weidinger, F.** The role of inflammation in the pathophysiology of acute coronary syndroms. *Wien Klin Wochenschr.* 2005, 117: 445-455.
5. **Gimbrone, MA Jr.** Vascular endothelium, hemodynamic forces and atherogenesis. *Am J Pathol.* 1999, 155: 1-5.
6. **Hansson, GK.** Inflammation, atherosclerosis and coronary artery disease. *N Engl J Med.* 2005, 352: 1685-1695.
7. **Huo, Y and Ley, KF.** Role of platelets in the development of atherosclerosis. *Trends Cardiovasc Med.* 2004, 14: 18-22.
8. **Gawaz, M, Langer, H and May, AE.** Platelets in inflammation and atherogenesis. *J Clin Invest.* 2005, 115: 3378-3384.
9. **van der Wal, AC and Becker, AE.** Atherosclerotic plaque ruptur- pathologic basis of plaque stability and instability. *Cardiovasc Res.* 1999, 41: 334-344.
10. **Kolodgie, FD, Burke, AP, Wight, TN and Virmani, R.** The accumulation of specific types of proteoglycans in eroded plaques: a role in coronary thrombosis in the absence of rupture. *Curr Opin Lipidol.* 2004, 15: 575-582.
11. **Lafont, A.** Basic aspects of plaque vulnerability. *Heart.* 2003, 89: 1262-1267.
12. **Hansson, GK and Libby, P.** The immunresponse in atherosclerosis: a double-edged sword. *Nat Rev Immunol.* 2006, 6: 508-519.
13. **King, SB 3rd and Meier, B.** Interventional treatment of coronary heart disease and peripheral vascular disease. *Circulation.* 2000, 102: 81-86.
14. **Bertrand, ME, Rupprecht, HJ, Urban, P and Gershlick, AH.** Double-blind study of the safety of clopidogrel with or without a loading dose in combination with aspirin compared with ticlopidine in combination with aspirin after coronary stenting (CLASSICS). *Circulation.* 2000, 102: 624-629.
15. **Massberg, S, Schulz, C and Gawaz, M.** Role of platelets in the pathophysiology of acute coronary syndroms. *Semin Vasc Med.* 2003, 3: 147-161.

16. **Awtry, EH and Loscalzo, J.** Aspirin. *Circulation*. 2000, 101: 1206-1218.
17. **Herold, G. und Mitarbeiter.** *Innere Medizin*. Köln : Dr.med. Gerd Herold, 2007: 743-744.
18. **George, JN.** Platelets. *Lancet*. 2000, 355: 1531-1539.
19. **Schulze, H and Shivdasani, RA.** Mechanisms of thrombopoiesis. *J Thromb Haemost*. 2005, 3: 1717-1724.
20. **Ruggeri, ZM and Mendolicchio, GL.** Adhesion mechanisms in platelet function. *Circ Res*. 2007, 100: 1673-1685.
21. **Gawaz, M.** *Das Blutplättchen*. Stuttgart : Georg Thieme Verlag, 1999.
22. **Ruggeri, ZM.** Platelets in atherothrombosis. *Nat Med*. 2002, 8: 1227-1234.
23. **Andrews, RK, Lopez, JA and Berndt, MC.** Molecular mechanisms of platelet adhesion and activation. *Int J Biochem Cell Biol*. 1997, 29: 91-105.
24. **Ruggeri, ZM.** Platelet adhesion under flow. *Microcirculation*. 2009, 16: 58-83.
25. **Clemetson, KJ.** Primary haemostasis: Sticky fingers cement the relationship. *Current Biol*. 1999, 9: 110-112.
26. **Ruggeri, ZM.** Mechanisms initiating platelet thrombus formation. *Thromb Haemost*. 1997, 78: 611-616.
27. **Ruggeri, ZM.** Platelets and von Willebrand factor interactions at the vessel wall. *Hämostaseologie*. 2004, 24: 1-11.
28. **Clemetson, KJ and Clemetson, JM.** Platelet collagen receptors. *Thromb Haemost*. 2001, 86: 189-197.
29. **Ruggeri, ZM.** The role of von Willebrand factor in thrombus formation. *Thromb Res*. 2007, 120: 5-9.
30. **Gachet, C.** Regulation of platelet functions by P2 receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2006, 46: 277-300.
31. **Kunapuli, SP, Dorsam, RT, Kim, S and Quinton, TM.** Platelet purinergic receptors. *Curr Opin Pharmacol*. 2003, 3: 175-180.
32. **Valera, S, Hussy, N, Evans, RJ, Adami, N, North, RA, Surprenant, A and Buell, G.** A new class of ligand-gated ion channel defined by P2X receptor for extracellular ATP. *Nature*. 1994, 371: 516-519.

33. **Valera, S, Talabot, F, Evans, RJ, Gos, A, Antonarakis, SE, Morris, MA and Buell, GN.** Characterization and chromosomal localization of a human P2X receptor from the urinary bladder. *Receptors Channels*. 1995, 3: 283-289.
34. **Brass, LF, Manning, DR, Cichowski, K and Abrams, CS.** Signaling through G proteins in platelets: to the integrins and beyond. *Thromb Haemost*. 1997, 78: 581-589.
35. **Ayyanathan, K, Webbs, TE, Sandhu, AK, Athwal, RS, Barnard, EA and Kunapuli, SP.** Cloning and chromosomal localization of the human P2Y1 purinoceptor. *Biochem Biophys Res Commun*. 1996, 218: 783-788.
36. **Hollopeter, G., Jantzen, HM, Vincent, D, Li, G, England, L, Ramakrishnan, V, Yang, RB, Nurden, P, Nurden, A, Julius, D and Conley, PB.** Identification of the platelet ADP receptor targeted by antithrombotic drugs. *Nature*. 2001, 409: 202-207.
37. **Geisler, T and Gawaz, M.** Variable response to Clopidogrel in patients with coronary artery disease. *Semin Thromb Haemost*. 2007, 33: 196-202.
38. **Mayr, FB and Jilma, B.** Current developments in anti-platelet therapy. *Wien Med Wochenschr*. 2006, 156: 472-480.
39. **Phillips, DR, Conley, PB, Sinha, U and Andre, P.** Therapeutic approaches in arterial thrombosis. *J Thromb Haemost*. 2005, 3: 1577-1589.
40. **Madan, M, Berkowitz, SD, James, E and Tcheng, JE.** Glykoprotein IIb/IIIa integrin blockade. *Circulation*. 1998, 98: 2629-2635.
41. **Pereillo, JM, Maftouh, M, Andrieu, A, Uzabiaga, MF, Fedeli, O, Savi, P, Pascal, M, Herbert, JM, Maffrand, JP and Picard, C.** Structure and stereochemistry of the active metabolite of clopidogrel. *Drug Metab Dispos*. 2002, 30: 1288-1295.
42. **Savi, P, Pereillo, JM, Uzabiaga, MF, Combalbert, C, Picard, C, Maffrand, JP, Pascal, M and Herbert, JM.** Identification and biological activity of the active metabolite of clopidogrel. *Thromb Haemost*. 2000, 84: 891-896.
43. **Hankey, GJ and Eikelboom, JW.** Antiplatelet drugs. *Med J Aust*. 2003, 178: 568-574.
44. **Müller, I, Seyfarth, M, Rüdiger, S, Wolf, B, Pogatsa-Murray, G, Schömig, A and Gawaz, M.** Effect of a high loading dose of clopidogrel on platelet function in patients undergoing coronary stent placement. *Heart*. 2001, 85: 92-93.
45. **Hochholzer, W, Trenk, D, Frundi, D, Blanke, P, Fischer, B, Andris, K., Bestehorn, HP, Büttner, HJ and Neumann, FJ.** Time dependence of platelet inhibition after a 600-mg loading dose of clopidogrel in a large, unselected

cohort of candidates for percutaneous coronary intervention. *Circulation*. 2005, 111: 2560-2564.

46. **von Beckerath, N, Taubert, D, Pogatsa-Murray, G, Schömig, E, Kastrati, A and Schömig, A.** Absorption, metabolization and antiplatelet effects of 300-, 600-, and 900-mg loading doses of clopidogrel: results of the ISAR-CHOICE (Intracoronary stenting and antithrombotic regimen: Choose between 3 high oral doses for immediate clopidogrel effect) . *Circulation*. 2005, 112: 2946-2950.

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

48. **Yusuf, S, Zhao, F, Mehta, SR, Chrolavicius, S, Tognoni, G and Fox, KK.** 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.

49. **Mehta, SR, Yusuf, S, Peters, RJ, Bertrand, ME, Lewis, BS, Natarajan, MK, Malmberg, K, Rupprecht, HJ, Zhao, F, Chrolavicius, S, Copland, I and Fox, KK.** Effects of pretreatment with clopidogrel and aspirin followed by long-term therapy in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the PCI-CURE study. *Lancet*. 2001, 358: 527-533.

50. **Steinhubl, SR, Berger, PB, Mann, JT 3rd, Fry, ET, DeLago, A, Wilmer, C and Topol, EJ.** Early and sustained dual oral antiplatelet therapy following percutaneous coronary intervention: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2002, 288: 2411-2420.

51. **Silber, S, Albertsson, P, Aviles, FF, Camici, PG, Colombo, A, Hamm, C, Jorgensen, E, Marco, J, Nordrehaug, JE, Ruzyllo, W, Urban, P, Stone, GW and Wijns, W.** Guidelines for percutaneous coronary interventions. The Task Force for Percutaneous Coronary Interventions of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J*. 2005, 26: 804-847.

52. **Järemo, P, Lindahl, TL, Fransson, SG and Richter, A.** Individual variations of platelet inhibition after loading doses of clopidogrel. *J Intern Med*. 2002, 252: 233-238.

53. **Müller, I, Besta, F, Schulz, G, Massberg, S, Schöning, A and Gawaz, M.** Prevalence of clopidogrel non-responder among patients with stable angina pectoris scheduled for elective coronary stent placement. *Thromb Haemost*. 2003, 89: 783-787.

54. **Gurbel, PA, Bliden, KP, Hiatt, BL and O'Conner, CM.** Clopidogrel for coronary stenting: response variability, drug resistance and the effect of pretreatment platelet reactivity. *Circulation*. 2003, 107: 2908-2913.

55. **Matetzky, S, Shenkman, B, Guetta, V, Shechter, M, Bienart, R, Goldenberg, I, Novikov, I, Pres, H, Savion, N, Varon, D and Hod, H.** Clopidogrel resistance is associated with increased risk of recurrent

atherothrombotic events in patients with acute myocardial infarction. *Circulation*. 2004, 109: 3171-3175.

56. **Serebruany, VL, Steinhubl, SR, Berger, PB, Malinin, AI, Bhatt, DL and Topol, EJ.** Variability in platelet responsiveness to clopidogrel among 544 individuals. *J Am Coll Cardiol*. 2005, 45: 246-251.

57. **Angiolillo, DJ, Fernandez-Ortiz, A, Bernardo, E, Ramirez, C, Sabate, M, Banelos, C, Hernandez-Antolin, R, Escaned, J, Moreno, R, Alfonso, F and Macaya, C.** High clopidogrel loading dose during coronary stenting: effects on drug response and interindividual variability. *Eur Heart J*. 2004, 25: 1903-1910.

58. **Geisler, T, Langer, H, Wydymus, M, Göhring, K, Zürn, C, Bigalke, B, Stellos, K, May, AE and Gawaz, M.** Low response to clopidogrel is associated with cardiovascular outcome after coronary stent implantation. *Eur Heart J*. 2006, 27: 2420-2425.

59. **Grossmann, R, Sokolova, O, Schnurr, A, Bonz, A, Porsche, C, Oberfell, A, Lengenfelder, B, Walter, U and Eigenthaler, M.** Variable extent of clopidogrel responsiveness in patients after coronary stenting. *Thromb Haemost*. 2004, 92: 1201-1206.

60. **Nguyen, TA, Diodati, JG and Pharand, C.** Resistance to clopidogrel: a review of evidence. *J Am Coll Cardiol*. 2005, 45: 1157-1164.

61. **Geisler, T and Gawaz, M.** Resistenzen gegenüber Plättchenfunktionshemmern: ein reales klinisches Problem. *Herz*. 2008, 33: 260-268.

62. **Taubert, D, Kastrati, A, Harlfinger, S, Gorchakova, O, Lazar, A, von Beckerath, N, Schmög, A and Schmög, E.** Pharmacokinetics of clopidogrel after administration of a high loading dose. *Thromb Haemost*. 2004, 92: 311-316.

63. **Kastrati, A, Schmög, A and Schmög, E.** Are we making efficient use of clopidogrel? *Eur Heart J*. 2004, 25: 454-456.

64. **Lau, WC, Gurbel, PA, Watkins, PB, Neer, CJ, Hopp, AS, Carville, DGM, Guyer, KE, Tait, AR and Bates, ER.** Contribution of hepatic cytochrome P450 3A4 metabolic activity to the phenomenon of clopidogrel resistance. *Circulation*. 2004, 109: 166-171.

65. **Suh, JW, Koo, BK, Zhang, SY, Park, KW, Cho, JY, Jang, IJ, Lee, DS, Sohn, DW, Lee, MM and Kim, HS.** Increased risk of atherothrombotic events associated with cytochrome P450 3A5 polymorphism in patients taking clopidogrel. *CMAJ*. 2006, 174: 1715-1722.

66. **Hulot, JS, Bura, A, Villard, E, Azizi, M, Remones, V, Goyenvallé, C, Aiach, M, Lechat, P and Gaussem, P.** Cytochrome P450 2C19 loss-of-function

polymorphism is a major determinant of clopidogrel responsiveness in healthy subjects. *Blood*. 2006, 108: 2244-2247.

67. **Mega, JL, Close, SL, Wiviott, SD, Shen, L, Hockett, RD, Brandt, JT, Walker, JR, Antman, EM, Macias, W, Braunwald, E and Sabatine, MS.** Cytochrome P450 polymorphisms and response to clopidogrel. *N Engl J Med*. 2009, 360: 354-362.

68. **Bates, ER, Lau, WC and Bleske, BE.** Loading, pretreatment, and interindividual variability issues with clopidogrel dosing. *Circulation*. 2005, 111: 2557-2559.

69. **Tentzeris, I, Siller-Matula, J, Farhan, S, Jarai, R, Wojta, J and Huber, K.** Platelet function variability and non-genetic causes. *Thromb Haemost*. 2011, 105: 60-66.

70. **Fontana, P, Dupont, A, Gandrille, S, Bachelot-Loza, C, Reny, JL, Aiach, M and Gaussem, P.** Adenosine diphosphate-induced platelet aggregation is associated with P2Y12 gene sequence variations in healthy subjects. *Circulation*. 2003, 108: 989-995.

71. **Geisler, T, Grass, D, Bigalke, B, Stellos, K, Drosch, T, Dietz, K, Herdeg, C and Gawaz, M.** The residual platelet aggregation after deployment of intracoronary stent (PREDICT) score. *J Thromb Haemost*. 2008, 6: 54-61.

72. **Rana, JS, Nieuwdorp, M, Jukema, JW and Kastelein, JJP.** Cardiovascular metabolic syndrome - an interplay of obesity, inflammation, diabetes and coronary heart disease. *Diabetes Obes Metab*. 2007, 9: 218-232.

73. **Lenz, M, Richter, T and Mühlhauser, I.** Morbidität und Mortalität bei Übergewicht und Adipositas im Erwachsenenalter. *Deutsches Ärzteblatt*. 2009, 40: 641-648.

74. **Ades, PA, Savage, PD, Toth, MJ, Schneider, DJ, Audelin, MC, Bunn, JY and Ludlow, M.** The influence of obesity and consequent insulin resistance on coronary risk factors in medically treated patients with coronary disease. *I J Obesity*. 2008, 32: 967-974.

75. **Levi, J, Gray, SL, Speck, M, Huynh, FK, Babich, SL, Gibson, WT and Kieffer, TJ.** Acute disruption of Leptin signaling in vivo leads to increased insulin levels and insulin resistance. *Endocrinology*. 2011, 152: 3385-3395.

76. **van de Woestijne, AP, Monajemi, H, Kalkhoven, E and Visseren, FL.** Adipose tissue dysfunction and hypertriglyceridemia: mechanisms and management. *Obes Rev*. 2011, 12: 829-840.

77. **Dandona, P, Aljada, A and Bandyopadhyay, A.** Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol*. 2004, 25: 4-7.

78. **Schneider, DJ.** Abnormalities of coagulation, platelet function, and fibrinolysis associated with syndromes of insulin resistance. *Coron Artery Dis.* 2005, 16: 473-476.
79. **Diercks, DB, Roe, MT, Mulgund, J, Pollack, CV, Kirk, JD, Gibler, WB, Ohman, EM, Smith, SC, Boden, WE and Peterson, ED.** The obesity paradox in non-ST-segment elevation acute coronary syndromes: Results from the Can Rapid risk stratification of Unstable angina patients Suppress ADverse outcomes with Early implementation of the American College of Cardiology. *Am Heart J.* 2006, 152: 140-148.
80. **Sharma, RK, Reddy, HK, Singh, VN, Sharma, R, Voelker, DJ and Bhatt, G.** Aspirin and Clopidogrel hyporesponsiveness and nonresponsiveness in patients with coronary artery stenting. *Vasc Health and Risk Management.* 2009, 5: 965-972.
81. **Toth, O, Calatzis, A, Penz, S, Losonczy, H and Siess, W.** Multiplate electrode aggregometry: a new device to measure platelet aggregation in whole blood. *Thromb Haemost.* 2006, 96: 781-788.
82. **Sibbing, D, Braun, S, Jawansky, S, Vogt, W, Mehilli, J, Schömig, A, Kastrati, A and von Beckerath, N.** Assessment of ADP-induced platelet aggregation with light transmission aggregometry and multiple electrode platelet aggregometry before and after clopidogrel treatment. *Thromb Haemost.* 2008, 99: 121-126.
83. **Cardinal, DC and Flower, RJ.** The electronic aggregometer: a novel device for assessing platelet behavior in blood. *J Pharmacol Methods.* 1980, 3: 135-158.
84. **Breugelmans, J, Vertessen, F, Mertens, G, Gadisseur, A and van der Planken, M.** Multiplate whole blood impedance aggregometry: A recent experience. *Thromb Haemost.* 2008, 100: 725-726.
85. **Velik-Salchner, C, Maier, S, Innerhofer, P, Streif, W, Klingler, A, Kolbitsch, C and Fries, D.** Point-of-care whole blood impedance aggregometry versus classical light transmission aggregometry for detecting aspirin and clopidogrel: the results of a pilot study. *Anesth Analg.* 2008, 107: 1798-1806.
86. **Gelber, RP, Gaziano, JM, Orav, EJ, Manson, JE, Buring, JE and Kurth, T.** Measures of obesity and cardiovascular risk among men and women. *J Am Coll Cardiol.* 2008, 52: 605-615.
87. **Feher, G, Koltai, K, Alkonyi, B, Papp, E, Keszthelyi, Z, Kesmarky, G and Toth, K.** Clopidogrel resistance: Role of body mass and concomitant medications. *Int J Cardiol.* 2007, 120: 188-192.
88. **Sibbing, D, von Beckerath, O, Schömig, A, Kastrati, A and von Beckerath, N.** Impact of Body Mass Index on platelet aggregation after

administration of a high loading dose of 600 mg clopidogrel before percutaneous coronary intervention. *Am J Cardiol.* 2007, 100: 203-205.

89. **Diehl, P, Olivier, C, Halscheid, C, Helbing, T, Bode, C and Moser, M.** Clopidogrel affects leukocyte dependent platelet aggregation by P2Y12 expressing leukocytes. *Basic Res Cardiol.* 2010, 105: 379-387.

90. **Sarno, G, Garg, S, Onuma, Y, Buszman, P, Linke, A, Ischinger, T, Klauss, V, Eberli, F, Corti, R, Wijns, W, Morice, MC, di Mario, C, van Geuns, RJ, Eerdmans, P, Garcia-Garcia, HM, van Es, GA, Goedhart, D, de Vries, T, Jüni, P, Meier, B, Windecker, S and al.** The Impact of Body Mass Index on the one year outcomes of patients treated by percutaneous coronary intervention with Biolimus- and Sirolimus- eluting stens (from the LEADERS trial). *Am J Cardiol.* 2010, 105: 475-479.

91. **Gaglia, MA, Torguson, R, Pakala, R, Xue, Z, Sardi, G, Mahmoudi, M, Suddath, WO, Kent, KM, Satler, LF, Pichard, AD and Waksman, R.** Relation of Body Mass Index to On-Treatment (Clopidogrel+Aspirin) platelet reactivity. *Am J Cardiol.* 2011, 108: 766-771.

92. **Clarke, TA and Waskell, LA.** The metabolism of clopidogrel is catalyzed by human cytochrome P450 3A and is inhibited by atorvastatin. *Drug Metab Dispos.* 2003, 31: 53-59.

93. **Kotlyar, M and Carson, SW.** Effects of obesity on the cytochrome P450 enzyme system. *Int J Clin Pharmacol.* 1999, 37: 8-19.

94. **Takaya, J, Iwamoto, Y, Higashino, H, Kino, M, Kobayashi, T and Kobayashi, Y.** Altered intracellular calcium and phorbol 12,13-dibutyrate binding to intact platelets in young obese subjects. *J Lab Clin Med.* 1997, 129: 245-250.

95. **Bhatt, DL.** What makes platelets angry: diabetes, fibrinogen, obesity, and impaired response to antiplatelet therapy? *J Am Coll Cardiol.* 2008, 52: 1060-1061.

96. **Lau, WC, Waskell, LA, Watkins, PB, Neer, CJ, Horowitz, K, Hopp, AS, Tait, AR, Carville, DGM, Guyer, KE and Bates, ER.** Atorvastatin reduces the ability of clopidogrel to inhibit platelet aggregation: a new drug-drug interaction. *Circulation.* 2003, 107: 32-37.

97. **Geisler, T, Zürn, C, Paterok, M, Göhring-Frischholz, K, Bigalke, B, Stellos, K, Seizer, P, Kraemer, BF, Dippon, J, May, AE, Herdeg, C and Gawaz, M.** Statins do not adversely affect post-interventional residual platelet aggregation and outcomes in patients undergoing coronary stenting treated by dual antiplatelet therapy. *Eur Heart J.* 2008, 29: 1635-1643.

98. **Zürn, CS, Geisler, T, Paterok, M and Gawaz, M.** Influence of statins on the antiplatelet effect of clopidogrel and on cardiovascular outcome in patients after coronary intervention. *Dtsch Med Wochenschr.* 2008, 133: 817-822.
99. **Geisler, T, Anders, N, Paterok, M, Langer, H, Stellos, K, Lindemann, S, Herdeg, C, May, AE and Gawaz, M.** Platelet response to clopidogrel is attenuated in diabetic patients undergoing coronary stent implantation. *Diabetes Care.* 2007, 30: 372-374.
100. **Angiolillo, DJ, Fernandez-Ortiz, A, Bernardo, E, Ramirez, C, Sabate, M, Jimenez-Quevedo, P, Hernandez, R, Moreno, R, Escaned, J, Alfonso, F, Banelos, C, Costa, MA, Bass, TA and Macaya, C.** Platelet functions profiles in patients with type 2 diabetes and coronary artery disease on combined aspirin and clopidogrel treatment. *Diabetes.* 2005, 54: 2430-2435.
101. **von Beckerath, N, Taubert, D, Pogatsa-Murray, G, Schömig, E, Kastrati, A and Schömig, A.** Absorption, metabolization and antiplatelet effects of 300-, 600- and 900-mg of loading dose Clopidogrel: results of the ISAR-CHOICE (Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen: Choose Between 3 High Oral Doses for Immediate Clopidogrel Effect) Trial. *Circulation.* 2005, 112: 2946-2950.
102. **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 and ALBION Trial Investigators.** A randomized comparison of high clopidogrel loading doses in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndroms: the ALBION (Assessment of the Best Loading Dose of Clopidogrel to Blunt Platelet Activation, Inflammation and Ongoing Necrosis) . *J Am Coll Cardiol.* 2006, 48: 931-938.

9 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die durch ihre Unterstützung zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Herrn Prof. Dr. Meinrad Gawaz danke ich für die Vergabe dieses interessanten Themas und die wissenschaftliche Betreuung.

Herrn PD Dr. Tobias Geisler danke ich für die Einführung in der Thematik sowie für seine immer kompetente und kollegiale Unterstützung während der Erstellung dieser Arbeit.

Frau Patricia Caponetto und Herrn Simon Aichele danke ich für die gute Zusammenarbeit.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern, die mir dieses Studium und auch die Durchführung dieser Arbeit erst ermöglicht haben.