

*Untersuchungen zur
Hemmung der
Thrombozytenaggregation
durch Acetylsalizylsäure (ASS)
bei kardiochirurgischen
Patienten*

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae (Dr. med)

*vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät der Friedrich-
Schiller Universität Jena*

von Alena Kanashnik

geboren am 23.06.1976 in Sankt Petersburg, Russland

Gutachter

1. Frau Prof. Dr. Erika Glusa (ehemals Universitätsklinikum Jena, Zentrum für Vaskuläre Biologie und Medizin (Erfurt), Humboldtstr. 20, 99096 Erfurt

2. Herr Prof. Dr. Günther Pöhlmann, Universitätsklinikum Jena, Klinik für Innere Medizin I

3. Herr HD Dr. Wolfgang Lösche, Universitätsklinikum Jena, Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin (FZL)

Tag der öffentlichen Verteidigung: 02.03.2010

Abkürzungsverzeichnis

A

AA Arachidonsäure

AC(V)B-OP Aorto-Coronarer-(Venen)-Bypass Operation

ADP Adenosindiphosphat

Arg Arginin

ATP Adenosintriphosphat

ASS Acetylsalicylsäure

B

BMI Body-mass-index

C

COPD chronische obstruktive pulmonale Erkrankung

COX Cyclooxygenase

CRP C-reaktives Protein

E

EDRF endothelium derived relaxing factor

EKG Elektrokardiogramm

G

GP Glykoproteinen

GIT gastrointestinaler Trakt

H

HWZ Halbwertzeit

HLM Herz-Lungen-Maschine

I

IL-1 Interleukin-1

IP3 Inositoltriphosphat

ITS Intensivstation

K

KHK Koronare Herzkrankheit

M

MAA 4-Methylaminoantipyrine

MRSA Methicillin-resistenter Staphylococcus aureus

MW Mittelwert

N

NANA N-Azetylneuraminsäure

NSAID/NSAR Nicht-steroidale Antiphlogistika/Nichtsteroidale Antirheumatika

NSTEMI nicht-ST-Hebungsinfarkt

O

OP Operation

OPCAB „off-pump-Verfahren“ oder Operation am schlagenden Herzen

P

PAI-I Plasminogen activator inhibitor-1

pAVK periphere arterielle Verschlusskrankheit

PDGF Thrombozytenwachstumsfaktor platelet derived growth factor
(Plättchenwachstumshormon)

PLC Phospholipase C

op operativ

PPP Plättchenarmes Plasma (platelet poor plasma)

PRP Plättchenreiches Plasma (platelet rich plasma)

R

RPR residuale Plättchenreaktivität

S

SD Standardabweichung

T

TxA 2 Thromboxan A 2

V

vWF von Willebrand Faktor

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

<i>1 Zusammenfassung</i>	8
<i>2 Einleitung</i>	10
<i>2.1 Der Thrombozyt und seine Rolle in der primären Hämostase</i>	10
2.1.2 Biochemisch-morphologische Grundlagen	10
2.1.3 Rolle der Thrombozyten in der Pathogenese der koronaren Herzerkrankung (KHK)	12
<i>2.2 Acetylsalicylsäure (ASS) als Hemmer der Thrombozytenaggregation</i>	14
2.2.1 Pharmakodynamik der ASS	14
2.2.2 Pharmakokinetik der ASS	15
2.2.3 Die optimale Dosierung	16
2.2.4 Stellenwert der ASS-Therapie	18
<i>2.3 „ASS-Resistenz“ oder ASS-Non-Response</i>	20
2.3.1 Definition und Häufigkeit der ASS-Non-Response	20
2.3.2 Überblick über die ASS-Resistenzstudien	21
2.3.3 Mögliche Ursachen von ASS-Non-Response	22
<i>2.4 Clopidogrelresistenz</i>	25
2.4.1 Bestimmung der Clopidogrelresistenz	25
2.4.2 Klinische Bedeutung der Clopidogrelresistenz	26
2.4.3 Ursachen der Clopidogrelresistenz	26
<i>3 Fragestellung</i>	28
<i>4 Material und Methoden</i>	29
<i>4.1. Thrombozytenaggregometrie nach Born</i>	29
4.1.1 Testprinzip	29
4.1.2 Patienten	29
4.1.3 Erfasste Merkmale	30
4.1.4 Blutentnahme	30
4.1.5 Durchführung der Aggregationsmessungen	31
4.1.6 Laborwerte	32

4.1.7 Statistische Analyse	32
5 Ergebnisse	33
5.1 Allgemeine Charakterisierung des Studienkollektivs	33
5.2 Operationsverfahren	34
5.3 Prästationäre Medikation mit ASS und/oder Clopidogrel	34
5.4 Allgemeine Laborparameter	35
5.5 Prä-operative Laborparameter bei Patienten mit und ohne prä-stationärer ASS-Therapie	36
5.6 Komplikationen in der peri- und postoperativen Phase	37
5.7 Häufigkeitsverteilung der Maxima der AA-induzierten Aggregation	39
5.8 Identifizierung von „ASS-Non-Respondern“	40
5.8.1 Häufigkeit der ASS-Non-Response	40
5.8.2 Fehlende Compliance oder geringe Bioverfügbarkeit	41
5.9 Wechsel zwischen Non-Response und Response	42
5.10 Maximale AA- und ADP-induzierte Aggregation bei ASS-Non- und Respondern	44
5.11 Einfluss der HLM auf ASS-Response/Non-Response	47
5.12 Einfluss einer Clopidogrel-Behandlung auf ASS-Response/Non-Response	50
5.13 Einfluss einer Behandlung mit Statinen auf ASS-Response/Non-Response	52
5.14 Einfluss eines bekannten Diabetes mellitus Typ II auf ASS-Response/Non-Response	53
5.15 Einfluss von Opioiden auf ASS-Response/Non-Response	54
5.16 NSAID (Metamizol) und ASS-Non-Response bei gesunden Probanden	55
6 Diskussion	56
6.1 Methodik für die Bestimmung der Thrombozytenfunktion und der ASS-Non-Response	56
6.2 Definition von ASS-Non-Response und ihre Häufigkeit	58
6.3 Identifizierung von ASS-Respondern/Non-Respondern	60
6.4 Stabilität der ASS-Non-Response	61
6.5 Einfluss der ASS-Non-Response auf die ADP-induzierte Aggregation	62
6.6 Hypothesen zur Erklärung der ASS-Non-Response	63
6.6.1 Einfluss der Risikofaktoren und Co-Morbidität auf ASS-Non-Response	63
6.6.2 Geschlechtsunterschiede und ASS-Non-Response	63
6.6.3 BMI und ASS-Non-Response	63
6.6.4 Individuelle Unterschiede in der Pharmakokinetik von ASS (geringe Bioverfügbarkeit oder geringe Dosis)	64

6.6.5 Medikamentenwechselwirkungen: Einfluss von Opioiden auf ASS-Non-Response	65
6.6.6 Alternative Stoffwechselwege und Co-Medikation als Ursache der ASS-Non-Response	66
6.6.7 Mangelnde Compliance und ASS-Non-Response	68
6.6.8 Einfluss der NSAR auf ASS-Non-Response	69
6.6.9 Andere Arzneimittelinteraktionen	71
6.6.10 Hyperreaktivität der Thrombozyten	71
6.6.11 COX-unabhängige Bildung von Isoprostanen	72
6.6.12 Genetische und erworbene Veränderungen, Interaktionen von Thrombozyten mit kernhaltigen Zellen sowie COX-2 Expression	72
6.6.13 Andere Ursachen wie Rauchen und Hypercholesterinämie	72
<i>6.7 ASS-Non-Response und Diabetes mellitus</i>	73
<i>6.8 Einfluss der HLM auf ASS-Non-Response</i>	74
<i>6.9 Komplikationen in der peri- und postoperativen Phase</i>	75
7 Schlussfolgerung	76
8 Literatur	77
9 Anhang	97
<i>9.1 Tabellarischer Lebenslauf</i>	97
<i>9.2 Danksagung</i>	98
<i>9.3 Ehrenwörtliche Erklärung</i>	99

1 Zusammenfassung

Hintergrund: Vaskuläre Ereignisse stellen die häufigste Todesursache dar, weit vor Infektionskrankheiten, Erkrankungen der Atmungsorgane und Krebs. Atherosklerose beginnt schon in jungen Jahren und bleibt über lange Zeit asymptomatisch. Die Ursachen sind je nach Gefäßgebiet unterschiedlich. Die Auslösung einer Thrombusbildung verläuft jedoch in den zerebrovaskulären, den kardiovaskulären und den peripheren Gefäßen in sehr ähnlicher Art und Weise ab. Das Vorhandensein einer Gefäßerkrankung in einem vaskulären Gebiet erhöht das Risiko für das Vorhandensein derselben in anderen Gefäßgebieten (Aronow und Ahn 1994). Deswegen ist eine suffiziente antithrombotische Therapie bei Risikopatienten lebenswichtig. Sie wird als Standard bei KHK-Patienten mit einer niedrigen ASS-Dosis (75-100 mg/die) durchgeführt. Trotz vieler positiver Berichte über die Effektivität dieser Therapie erschienen zahlreiche Studien, welche eine unzureichende Hemmung der Thrombozytenfunktion durch ASS gezeigt haben. Diese Situation wurde als ASS-Resistenz bzw. ASS-Non-Response bezeichnet. Besonders betroffen waren Patienten nach einer Aorto-Koronaren-Bypass-Operation (AC(V)B-OP) (Zimmermann et al.2003, ATC 2002). Zu dem Phänomen „ASS-Resistenz“ gibt es gegenwärtig mehr Fragen als Antworten. Was ist überhaupt „ASS-Non-Response“? Wie wird sie definiert? Wie häufig tritt sie auf? Welche Methode liefert die zuverlässigsten Ergebnisse? Welche Ursachen und Mechanismen liegen zugrunde? Mit welchen klinischen Konsequenzen soll ein ASS-Non-Responder rechnen?

Fragestellung und Ziele: Ziel dieser Arbeit war, mittels des in vitro Thrombozytenaggregationstests nach Born eine individuelle, nahezu vollkommene Aggregationshemmung durch ASS bei kardiochirurgischen Patienten zu ermitteln. Folgende Fragen wurden gestellt: Wie häufig kommt ASS-Non-Response vor? Ist sie stabil? Welche Faktoren sind für die Entstehung der ASS-Non-Response verantwortlich? Lässt sich der Einfluss der Co-Medikation und der Herz-Lungen-Maschine auf die ASS-Responder/Non-Responder nachweisen?

Methodik: In einer prospektiven Studie wurden 102 Patienten der Klinik für Herz- und Thoraxchirurgie der FSU Jena untersucht, welche sich einer AC(V)B- und/oder Klappenoperation mit oder ohne Einsatz der Herz-Lungen-Maschine unterzogen haben. Etwa 50 % der Patienten wurden in off-pump-Verfahren operiert. Bei 97 % der Patienten erfolgte eine kombinierte Bypass- und Klappenoperation, 3 % erhielten nur eine Klappenoperation. Für die sekundäre

Prophylaxe thrombotischer Ereignisse wurde bei allen Patienten mit einer niedrigen ASS-Dosis (100 mg/die) bereits ab dem 1. postoperativen Tag begonnen. Die Bearbeitung der Blutproben (Zitratblut) erfolgte präoperativ, am 1.- und am 5.-7. postoperativen Tag. Das PRP (plättchenreiches Plasma) wurde innerhalb von 30 Minuten nach der Blutentnahme hergestellt. Thrombozytenagonisten waren Arachidonsäure (AA) (1,642 mM) und ADP (3 und 30 μ M). Noch eine zweite AA-induzierte Aggregation wurde als Kontrolle nach Zusatz exogener ASS (10 mM) ausgelöst. ASS-Non-Response wurde bei max. AA-Aggregation von $\geq 30\%$ definiert.

Ergebnisse: Es zeigte sich postoperativ eine sehr hohe Inzidenz an ASS-Non-Response. Jeder zweite Patient war ASS-Non-Responder (max. 64,5 % am 5.-7. post-op Tag auf ASS-Medikation und max. 52,9 % am 1. post-op Tag auf exogen zugesetzte ASS). Non-Respondern auf ASS-Medikation wiesen nach Zusatz exogener ASS in ca. 30 % der Fälle präoperativ, ca. 25 % am 1. post-op Tag und ca. 45 % am 5.-7. post-op Tag weiterhin ASS-Non-Response auf. ASS-Non-Response/Response zeigte einen instabilen Charakter und wechselte postoperativ innerhalb des stationären Aufenthaltes. Dabei war der Wechsel von Non-Response zu Response signifikant häufiger als ein Wechsel von Response zu Non-Response (50,0 % Vs 28,3 %; $p=0,039$). Lebensbedrohliche Komplikationen erlitten bis auf 2 Ausnahmen ASS-Non-Responder. Bei allen Non-Respondern konnte man in der präoperativen Phase nicht nur wie erwartet eine deutlich stärkere AA-induzierte Aggregation, sondern auch stärkere ADP-induzierte Aggregationen beobachten. Eine Operation mit HLM, Diabetes mellitus oder Co-Medikation mit Clopidogrel, Statinen oder Opioiden hatten keinen signifikanten Einfluss auf die ASS-Response/Non-Response. Ergänzend wurden entsprechende Messungen mit PRP von 5 gesunden Probanden durchgeführt, die hierfür ASS über einen Zeitraum von 3 Tagen mit identischer Dosis (100 mg/die) und anschließend Metamizol (3 g/die) in Kombination mit ASS (100 mg/die) peroral innerhalb von weiteren 2 Tagen einnahmen. Hier konnte auch kein Zusammenhang zwischen den nicht steroidal Antiphlogistika (NSAID) und ASS-Non-Response gesehen werden.

Schlussfolgerung: ACVB-Patienten zeigen bereits präoperativ ASS-Non-Response, welche zum Teil auf Compliancestörung und geringe Bioverfügbarkeit zurückzuführen ist. In der post-op Phase steigt die Non-Response-Rate enorm an. Jeder zweite Patient ist ein ASS-Non-Responder. Die bekanntesten Konzepte zur Erklärung dieses Phänomens, wie Einfluss der HLM und Co-Medikation sowie Arzneimittelinteraktionen mit Opioiden, konnten hier nicht nachgewiesen werden. ASS-Non-Response ist kein konstantes Phänomen und hat einen wechselhaften Charakter. Alternative Stoffwechselwege könnten ASS-Non-Response verursachen.

2 Einleitung

2.1 Der Thrombozyt und seine Rolle in der primären Hämostase

2.1.1 Biochemisch-morphologische Grundlagen

Die von Everad Home (1763-1832) zuerst erwähnten Thrombozyten sind kernlose Zytoplasmafragmente der Megakaryozyten. Im peripheren Blut liegt ihre Konzentration zwischen 150 000 und 400 000/ μl . Die mittlere Lebenszeit im peripheren Blut ist etwa 10 Tage (Dale 1997). Die Zellmembran enthält verschiedene Typen von Glykoproteinen (GP), N-Azetylneuraminsäure (NANA) und Sialinsäure, welche Thrombozytenrezeptoren überdeckt und das „invasive“ Verhalten der Blutplättchen verhindert (Nicolson et al 1981, Robbins et al 1984). Im Zellinneren befinden sich neben Mitochondrien verschiedene Typen von Granula, die nach Aktivierung ihre Inhaltsstoffe freigeben, welche an gerinnungsphysiologischen Abläufen beteiligt sind.

2.1.2 Zelluläre Hämostase

Die physiologische Antwort der Thrombozyten auf traumatische Verletzung wurde bereits von Holmsen als „basic platelet reaction“ beschrieben (Holmsen 1977) und wird primär durch thrombogene subendotheliale Komponenten (wie z.B. Kollagenfasern, Cholesterin etc.) ausgelöst. Die **Thrombozytenaktivierung** ist ein mehrstufiger Prozess, wobei eine der ersten Antworten auf die meisten Agonisten ist die Aktivierung von Phospholipase C (PLC). Die Thrombozyten verändern ihre Form (shape change): sie nehmen eine kugelige Gestalt mit Filopodien an. Durch die Umorganisation der Zellmembran kommt es zur Aktivierung der Glycoprotein-IIb/IIIa-Rezeptoren (GP IIb/IIIa) so, dass sich die Thrombozyten zunächst an die Kollagenfasern anheften (**Adhäsion**). Eine wesentliche Rolle spielt dabei der von-Willebrand-Faktor (vWF), ein lösliches Protein, der zusammen mit Fibronectin und Laminin Proteinbrücken zwischen Kollagenfasern und Thrombozytenrezeptoren (GP Ib/IX) bildet. Fibrinogen verbindet über seine bivalente Struktur jeweils einen **Integrin- $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$** (GP-IIb/IIIa-Rezeptor) auf zwei benachbarten Thrombozyten miteinander und stabilisiert dadurch das Aggregat. Das ermöglicht den Thrombozyten trotz hoher Scherkräfte, an der Gefäßwand bzw. an weiteren Thrombozyten haften zu bleiben. Es wird eine stabile Unterlage für weitere anhaftende Thrombozyten geschaffen. Die Thrombozyten breiten sich unter Energieverbrauch und Zusammenballen

(*clustering*) des Integrin- $\alpha_{IIb}\beta_3$ aus (*spreading*) und sezernieren gespeicherte Inhaltsstoffe (Calcium-Ionen, ADP, Serotonin, Thromboxan A2 u.a.) (Brun et al). Die größte physiologische Relevanz haben folgende Thrombozytenagonisten: Thrombin, ADP, Kollagen, AA und Epinephrin. Für jeden dieser Agonisten existieren an der Plättchenoberfläche spezifische Rezeptoren. Eine wesentliche Rolle spielen für die Freisetzung der AA (aus Membranphospholipiden durch das Enzym Phospholipase A2) Calciumionen. AA wird durch das Enzym Cyclooxygenase zu Prostaglandin (PG), Endoperoxiden und schließlich zu dem stark wirksamen Thrombozytenagonisten Thromboxan A2 (TxA2) umgeformt. TxA2 fördert zum einen die Thrombozytenaggregation (Hamberg et al. 1975, FitzGerald 1991) und zum anderen trägt maßgeblich zur Verengung des Blutgefäßes bei, die einem hohen Blutdurchfluss entgegenwirkt (Moncada und Vane 1979). Ein reaktives Serin in Position 529 der thrombozytären Cyclooxygenase wird durch Acetylsalicylsäure alkyliert und führt zu einer dauerhaften Inaktivierung des Enzyms (s. Abbildung 1).

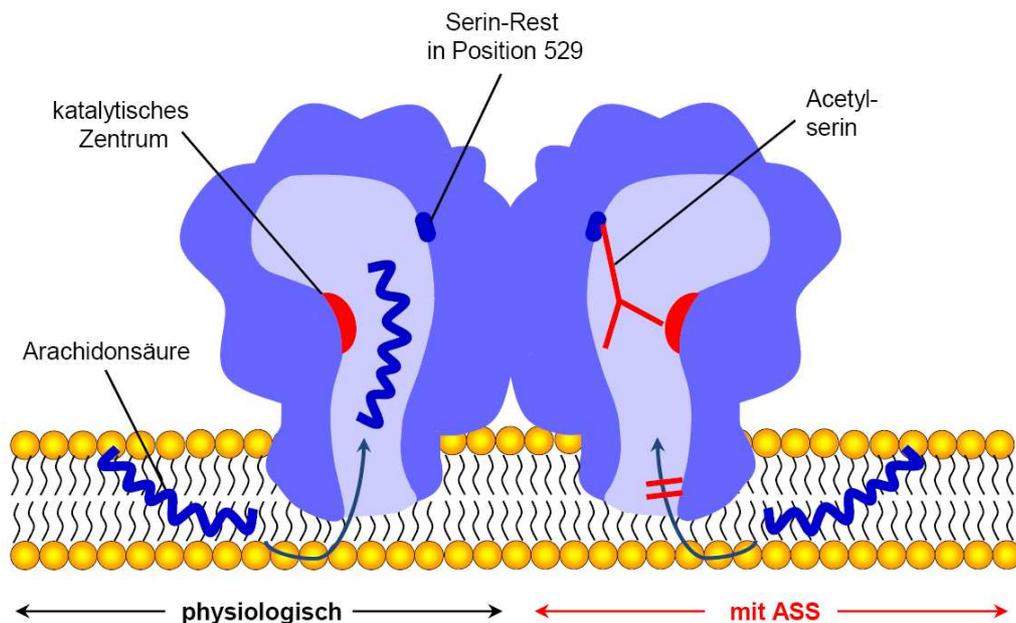


Abbildung 1: Hemmung der Cyclooxygenase (COX) durch ASS. Auf der linken Seite ist dargestellt, wie Arachidonsäure unter physiologischen Bedingungen mit dem katalytischen Zentrum der COX in Kontakt treten kann. Die rechte Seite in Abb. 5 zeigt, wie durch Übertragung der Acetylgruppe von ASS auf den Serin-Rest in Position 529 (Roth und Majerus 1975) der Zugang zum katalytischen Zentrum für die Arachidonsäure versperrt wird (DeWitt et al. 1990, Loll et al. 1995)

ADP reagiert vermutlich mit den Rezeptoren P2X1, P2Y1, P2Y12 (s. Abbildung 2). Davon vermittelt P2X1 die thrombozytäre Formänderung, P2Y1 und P2Y12 sind für die

Thrombozytenaggregation verantwortlich. Auch der Inhalt der „elektronendichten α -Granula“ der Thrombozyten wird ausgeschüttet: Gerinnungsfaktoren (Faktor V, Faktor VIII), Adhäsivproteine (vWF, Fibronektin, Thrombospondin) und Wachstumsfaktoren. Durch Aktivierung verschiedener Stoffwechselwege wird vermehrt der Platelet Activating Factor, plättchenaktivierender Faktor (PAF) gebildet. Zusätzlich präsentieren aktivierte Thrombozytenmembranen Oberflächen für die Adsorption und Konzentration von Gerinnungsfaktoren und bewirken damit eine Beschleunigung der Gerinnungskaskade. Daraus resultiert sich die Bildung eines Fibrinnetzwerkes, das den ansonsten brüchigen Plättchenthrombus stabilisiert. Anschließend retrahiert sich der Plättchen-Fibrin-Thrombus in einem thrombozytenabhängigen Prozess und nimmt so ein kleineres Volumen ein.

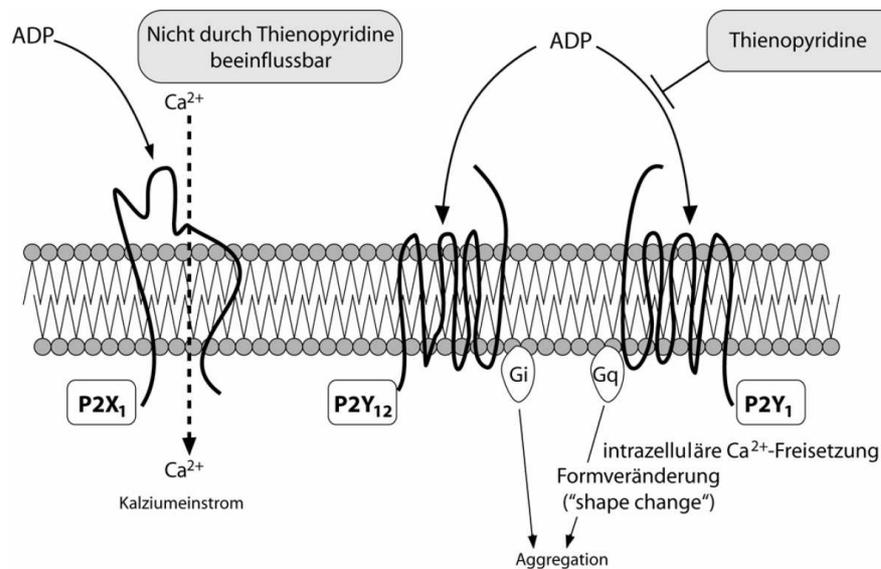


Abbildung 2: Schematische Darstellung der ADP-Rezeptoren

2.1.3 Rolle der Thrombozyten in der Pathogenese der koronaren Herzerkrankung (KHK)

Hauptursache der KHK ist die Atherosklerose der Koronargefäße. Die Atherosklerose ist eine chronische Gefäßerkrankung, die nach der „Response-to-injury“-Hypothese durch eine Schädigung des Gefäßendothels entsteht (Ross 1999). Die Schädigung kann mechanischer Art sein (z.B. durch Ballonangioplastie) oder durch biochemische Faktoren (Nikotin, LDL-Cholesterin, Homocystein, etc.) hervorgerufen werden (Böger et al. 1997). In neuerer Zeit

werden weitere Risikofaktoren diskutiert. Hierzu gehören bestimmte Entzündungsmarker, wie der Fibrinogenspiegel oder das CRP im Blut, sowie hämostatische Faktoren wie der vWF. Auch das Vorhandensein chronischer Infektionen durch Chlamydien soll ursächlich für die Genese der Arteriosklerose sein (Ennker et al). Die pathogenetische Bedeutung der letztgenannten Faktoren ist jedoch zurzeit erst in ihren Ansätzen bekannt. Ein dysfunktionales Endothel reagiert mit einer Reduktion der Bildung bzw. biologischen Wirkung vasodilatierender endothelialer Mediatorsubstanzen wie Prostacyclin und Stickstoffmonoxid (Böger et al. 1997). Die Folgen einer reduzierten biologischen Aktivität sind zum einen eine gesteigerte Leukozytenadhäsion an das Endothel und Migration von Leukozyten in die Gefäßwand, zum anderen eine Abnahme der thrombozytenadhäsions- und aggregationshemmenden Eigenschaften des Endothels. In der Folge lagern sich Thrombozyten an die Gefäßinnenwand an, wodurch der komplexe thrombozytäre Aktivierungsvorgang in Gang gesetzt wird (Gawaz 2001). Die Folgen sind Verengung der Koronargefäße und ein verlangsamter Blutstrom, der die Bildung von Thromben begünstigt (Virchow'sche Trias). Zirkulierende aktivierte Thrombozyten geben eine Vielzahl weiterer Substanzen in ihre Umgebung ab (Wachstumsfaktoren, proinflammatorische Faktoren, Koagulationsfaktoren, hydrolytische Enzyme), die eine entscheidende Rolle an der Entstehung atherosklerotischer zuerst inaktiver Plaques spielen (Ruggeri 2002, Gawaz et al. 2005). Z. B. verursacht das Plättchenwachstumshormon (PDGF) (Deut et al 1984) eine Proliferation und ein Wachstum der glatten Muskelzellen (Holmsen and Weiss 1979). Der Übergang zur instabilen Plaque ist u.a. dadurch gekennzeichnet, dass die fibröse Kappe über der Plaque nicht mehr intakt ist und vermehrt lokale Inflammationsprozesse auftreten. Die finale Katastrophe, die zum Verschluss des Gefäßes führt, ist dadurch gekennzeichnet, dass eine Plaqueruptur auftritt. Die Thrombozyten versuchen, diese Läsion abzudichten, und es kommt zu massiver Anlagerung eines thrombozytenreichen Thrombus (Prim. Univ.-Prof. Dr. Franz Aichner und Dr. Michael Brainin u a. 1999), der einen partiellen (instabile Angina pectoris) oder kompletten Koronarverschluss (Myokardinfarkt) zur Folge haben kann. Bei einer aortokoronaren Bypass-Operation (ACB-OP) verursacht jede Gefäßpräparation lokale endotheliale und mediale Läsionen, welche ebenfalls eine Thrombozytenaktivierung zur Folge haben. Außerdem sind fibrinolytische und gerinnungshemmende Mechanismen in ihrer Aktivität eingeschränkt (Motwani und Topol, 1998). Auch die Freisetzung von Katecholaminen und Zytokinen sowie eine Aktivierung des Komplementsystems bewirken eine gesteigerte Plättchenaktivierung (Moake et al.1988; Wildhirt et al.2001; Strüber et al.1999; Wiedmer et al.1991). Außerdem spielt die hohe Sensitivität der

implantierten Gefäße gegenüber Vasokonstriktoren eine große Rolle (Motwani und Topol, 1998). Spätere Verschlüsse beginnen durch intimale Hyperplasien infolge einer Proliferation von glatten Muskelzellen. Dieser Gewebezuwachs, der vier bis sechs Wochen nach dem Eingriff beginnt, führt seinerseits zu einer Lumeneinengung von etwa 25 %. Im Verlauf von Jahren nach erfolgter Myokardrevaskularisation schließt sich der intimalen Hyperplasie eine atherosklerotische Wachstumsphase an. Die Ausbildung atherosklerotischer Plaques trägt maßgeblich zur erneuten Stenosenbildung bei und ist nur schwer zu beeinflussen (Motwani und Topol, 1998).

2.2 Acetylsalicylsäure als Hemmer der Thrombozytenaggregation

Bei der Pathogenese atherothrombotischer Komplikationen wie Myokardinfarkt, Schlaganfall und periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK) spielt die Aktivierung der Thrombozyten, wie o.b., eine zentrale Rolle. Pharmaka, welche die Thrombozytenfunktion hemmen, haben deshalb in großem Umfang in der kardiovaskulären Prävention Anwendung gefunden. Wohl am besten etabliert ist in diesem Zusammenhang die Acetylsalicylsäure (ASS).

2.2.1 Pharmakodynamik der ASS

ASS gehört zur Gruppe der NSAID und hemmt die Biosynthese von PG und TxA₂ durch irreversible Blockade des Schlüsselenzyms COX durch Acetylierung eines Serinbausteins 529. Die Halbwertszeit von TxA₂ beträgt ca. 30 Sekunden. Für eine klinisch signifikante Hemmung der Thrombozytenfunktion ist eine Hemmung der Thromboxansynthese um 95% oder mehr erforderlich. Als Folge wird die AA- und kollageninduzierte Plättchenaggregation gestoppt. Der TxA₂-abhängige Stoffwechsel ist jedoch nur einer der möglichen Wege zur Aktivierung der Thrombozyten. Grundsätzlich bleibt unter ASS die Fähigkeit der Thrombozyten zur Adhäsion, Aggregation und Freisetzungsreaktionen (z.b. nach Aktivierung durch ADP) erhalten. Anfang der 90er Jahre wurden zwei Isoformen der Cyclooxygenase identifiziert, die COX-1 und die COX-2 (Fu et al. 1990, Masferrer et al. 1990, Kujubu et al. 1991, O'Banion et al. 1991, Xie et al. 1991, Sirois und Richards 1992). Die COX-1 bewirkt als konstitutiv exprimiertes Enzym die physiologische Synthese von PG, z.b. im Magen, in den Thrombozyten oder in der Niere. Die PG-Synthese wird hier v.a. durch die Verfügbarkeit des Substrats AA reguliert. Die so gebildeten PG sind als Gewebshormone (Autacoide) an der physiologischen Regulation vieler Organfunktionen beteiligt. Die COX-2 ist dagegen durch verschiedene Faktoren (z.b. Cytokine, v.a. Interleukin-1 (IL-1), Wachstumsfaktoren) schnell induzierbar und wird im Rahmen von

Entzündungs- und Schmerzprozessen (Mitchell 1994) sowie anderen Gewebeschädigungen verstärkt exprimiert (Smith et al. 1996). Allerdings gibt es auch eine konstitutive Expression der COX-2, z.B. im ZNS (Yamagata et al. 1993) oder in der Niere (Harris et al. 1994). Auch in Gefäßendothelzellen existiert neben einer COX-1-Expression eine COX-2-Expression, die erheblich von der physiologischen Hämodynamik beeinflusst wird (Topper et al. 1996). ASS ist ein ca. 150-fach stärker wirksamer Inhibitor der COX-1 als COX-2. Während die COX-1 am Serin-Rest 529 acetyliert wird, erfolgt die Acetylierung der COX-2 am Serin-Rest in Position 516 (Lecomte et al. 1994, Mancini et al. 1994). Mit Steigerung der Plasmakonzentration von ASS entwickelt sich initial der antiaggregatorische Effekt (50-100 mg ASS/d), erst dann zeigen sich antipyretische-, analgetische- (500 mg ASS/d) und antiphlogistisch-antirheumatische (bis zu 5 g/d) Wirkungen. Die antiaggregatorische Wirkung beruht sich auf der Freisetzung der PG. Die kernhaltigen Endothelzellen können sehr schnell das durch ASS acetylierte Enzymprotein wieder regenerieren im Gegensatz zu den kernlosen Thrombozyten (Jaffe und Weksler 1979, Patrono et al. 1985, Vesterqvist 1986). Durch die rasch wieder einsetzende Prostazyklinresynthese weist die klinische Hemmwirkung von ASS in Endothelzellen daher Halbwertszeit von wenigen Stunden einen reversiblen Charakter auf. Dennoch erscheint die angestrebte Dissoziation der ASS-Wirkung auf Thrombozyten und Endothel insbesondere bei Patienten mit Arteriosklerose nur gering eingeschränkt möglich. So wurde bei Patienten mit KHK oder pAVK trotz Verwendung niedriger ASS-Dosen von 50 bzw. 40 mg eine deutliche Reduktion der vaskulären Prostazyklinsynthese nachgewiesen (Gulba D.C.).

2.2.2 Pharmakokinetik der ASS

ASS wird nach oraler Verabreichung rasch im Magen und oberen Duodenum zu mehr als 90% resorbiert und führt bereits im Portalkreislauf (nach ca. 1 Stunde) zur irreversiblen Hemmung der Thrombozyten-COX. Nach Wandpassage in Magen und oberen Dünndarm erfolgt die Hydrolyse zu Salizylsäure, welche keine plättchenhemmende Wirkung besitzt (Pedersen und FitzGerald 1984). Da die Deazetylierung zu Salizylsäure etwa zur Hälfte bereits im Pfortaderblut und in der Leber erfolgt, erreicht normalerweise etwa die Hälfte einer gegebenen ASS-Dosis unverändert den Systemkreislauf (präsystemische Deazetylierung) (s. Abbildung 3). Ist die Verweildauer von ASS in Darm, Pfortaderblut oder Leber verlängert (gestörte Resorption, pharmakologische Präparation mit verzögerter Wirkstofffreisetzung), so kann sich der Anteil der präsystemisch deazetylierten ASS erhöhen. Da ASS jedoch bereits im Pfortaderkreislauf mit den Thrombozyten des Blutes in Kontakt tritt, hat dies keinen Einfluss auf ihre antithrombozytäre Wirksamkeit. Im

Gegensatz dazu wird bei gesteigerter präsystemischer Deazetylierung die systemische Bioverfügbarkeit, d.h. derjenige Anteil von ASS, der mit der arteriellen Strombahn in Kontakt tritt, geringer. Die höchsten Plasmaspiegel werden nach ca. 25 min. verzeichnet. Bei magensaftresistenten Tabletten hingegen werden die höchsten Plasmaspiegel nach ca. 3–4 h erreicht. Die orale Bioverfügbarkeit von unretardiertem bzw. nichtmagensaftresistentem ASS beträgt ungefähr 40% über eine weite Dosisspanne hinweg. Nach Angaben anderer Autoren beträgt die präsystemische Metabolisierung im gastrointestinalen Trakt (GIT) und in der Leber etwa 30% (Aktories K. et al). Die Plasmahalbwertszeit von ASS ist dosisabhängig: **0,3 g** ca. 3 h, **1 g** 5-6 h, **höhere Dosen** bis > 30 h. Die Metaboliten werden renal eliminiert durch Konjugation mit Glycin hauptsächlich als Salicylsäure und als Glukuronid und freie Salicylsäure (Schrör 1992). Der Anteil an Salicylat selbst, der renal ausgeschieden wird, liegt pH-abhängig zwischen 5% im sauren und 85% im alkalischen Urin. Bei Leber – oder Nierenfunktionsstörungen muss die Dosis vermindert werden.

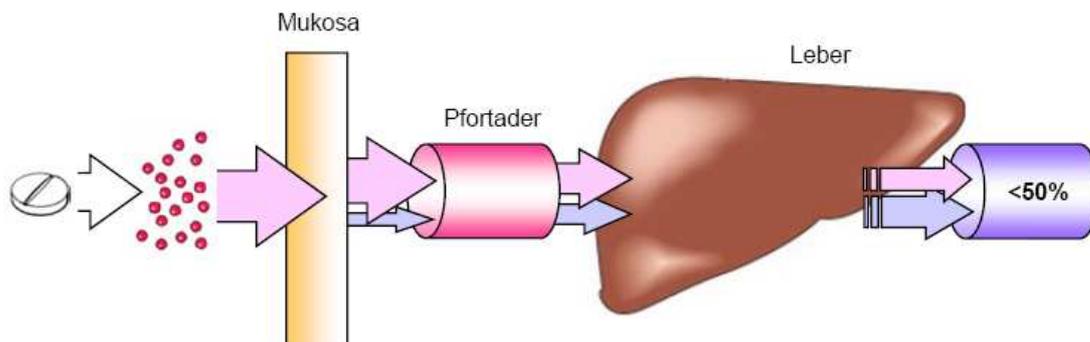


Abbildung 3: ASS auf dem Weg in den systemischen Blutkreislauf. Die rosa markierten Pfeile stellen entsprechend ihrer abnehmenden Breite die während der Passage des präsystemischen Kreislaufs sinkende ASS-Konzentration dar; die blau markierten Pfeile symbolisieren die Zunahme der Metabolit-Konzentration. Aufgrund der hohen präsystemischen Metabolisierungsrate besitzt ASS eine geringe systemische Bioverfügbarkeit von unter 50% (Pedersen und FitzGerald 1984)

2.2.3 Die optimale Dosierung der ASS

Durch eine einmalige Gabe einer niedrigen ASS-Dosis werden längst nicht alle Thrombozyten des Blutkreislaufs erreicht. Hinzu kommt, dass täglich 10% des gesamten Thrombozyten-Pools durch neu gebildete Thrombozyten aus dem Knochenmark ersetzt werden (O'Brien 1968, Cerskus et al. 1980); das sind bei einem Erwachsenen etwa 240 Milliarden neu gebildete Thrombozyten pro Tag. Um die angestrebte mindestens 95%-ige Hemmung der TxA₂-Synthese zu erreichen, ist die wiederholte tägliche Gabe niedriger ASS-Dosen erforderlich. Diese bewirkt

über einen kumulativen Prozess eine fraktionelle Acetylierung der jeweils noch unacetylierten thrombozytären COX (Patrono et al. 1985, Küster und Frölich 1986). Bei den gesunden Probanden konnte man bereits nach einer Woche Therapie mit 30 mg ASS pro Tag eine komplette Hemmung der TxA₂-Synthese beobachten (Patrignani et al. 1982, Patrono et al. 2005). Es gibt aber starke individuelle Unterschiede. Wie eine Studie von Bode-Böger et al. 1998 gezeigt hat, konnte bei gesunden Probanden, welche innerhalb einer Woche täglich 40 mg ASS eingenommen haben, eine unzureichende Hemmung der Kollagen-induzierten Aggregation von nur 24 % und eine Hemmung der TxA₂-Synthese von 55 % festgestellt werden. Bei ASS-Behandlung mit 100 mg/die zeigte sich schon eine Reduktion der Kollagen-induzierten Aggregation um 69% sowie eine Unterdrückung der TxA₂-Bildung um 90%. Außerdem liegt bei Patienten mit Atherosklerose eine Hyperaktivität der zirkulierenden Thrombozyten vor, so dass die minimale effektive ASS-Dosis, die an gesunden Probanden ermittelt wurde, nicht unmittelbar für gefäßkranke Patienten übernommen werden kann (Knapp et al. 1988). In mehreren klinischen Studien mit vaskulären Hochrisiko-Patienten konnte ASS in einer minimalen effektiven täglichen Dosis von 75 mg das Risiko atherothrombotischer Ereignisse signifikant reduzieren (RISC-Group 1990, SALT Collaborative Group 1991, Juul-Möller et al. 1992). Darüber hinaus gibt es zahlreiche klinische Studien, die überprüft haben, ob höhere ASS-Dosierungen auch eine höhere antithrombotische Wirksamkeit zur Folge haben. Die Ergebnisse scheinen bei herzchirurgischen Patienten umstritten zu sein. Als Beispiel seien Studien genannt, die die Effektivität einer ASS-Behandlung nach ACB-OP untersucht haben: Die Reokklusionsrate wurde in jeder dieser Studien in ähnlichem Ausmaß reduziert, unabhängig davon, ob täglich 100 mg (Lorenz et al. 1984), 325 mg (Goldman et al. 1988), 975 mg (Goldman et al. 1988) oder 1.200 mg ASS (Brown et al. 1985) eingenommen wurden. Einer anderen Metaanalyse zufolge scheint bezüglich der ASS-Dosierung nach ACB-OP eine Dosisabhängigkeit zu bestehen. Dabei wurde das relative Risiko für einen postoperativen Transplantatverschluss untersucht und eine Risikoreduktion von 45 % bei einer täglichen Gabe von 300-325 mg gegenüber 26 % bei 75-100 mg ASS dokumentiert (Lim et al., 2003). Trotzdem die Schlussfolgerung vieler weiterer Studien ist, dass höhere ASS-Dosierungen nicht effektiver sind als niedrige (75 – 100 mg/Tag). Im Gegenteil, es gibt Hinweise, dass es unter höheren Dosierungen aufgrund der zunehmenden Hemmung der vaskulären Prostacyclin-Synthese zu einer Abschwächung des antithrombotischen Effekts kommt (Taylor et al. 1999, Antithrombotic Trialists' Collaboration 2002). Außerdem steigt mit zunehmender Dosis die Nebenwirkungsrate erheblich an (Farrel et al. 1991, Dutch TIA Trial Study Group 1991).

Darunter sind schwerer und lebensbedrohlicher Blutungen. So konnte in der CURE (Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent Events)-Studie gezeigt werden, dass unter der Therapie mit ASS ≤ 100 mg/Tag die wenigsten schwerwiegenden Blutungskomplikationen aufgetreten waren, ganz gleich ob ASS in Kombination mit Clopidogrel gegeben worden war oder alleine (Peters et al. 2003). Auch nur bei 1 bis 2 von 1000 gefäßkranken Patienten traten schwere Blutungskomplikationen unter einer niedrig dosierten ASS-Therapie auf (García Rodríguez et al. 2001, Antithrombotic Trialists' Collaboration (ATC) 2002, Patrono et al. 2004b) und 1 bis 2 Patienten von 10.000 erlitten einen hämorrhagischen Schlaganfall (ATC 2002). Aufgrund der Dosisabhängigkeit der Nebenwirkungsrate wird als optimale Dosierung die niedrigste tägliche Dosis angegeben, für die ein Wirksamkeitsnachweis in Bezug auf die jeweilige Indikation erbracht werden konnte (Patrono et al. 2004a). Für die Langzeitprophylaxe zur Reduktion der vaskulären Ereignisrate bei Hochrisiko-Patienten liegt der optimale Dosierungsbereich zwischen 75 mg und 100 mg ASS pro Tag (Patrono et al. 2004a). Dabei ist die regelmäßige tägliche Einnahme aufgrund der interindividuellen Variabilität des Thrombozytenumsatzes (Hamsten et al. 1985, Tschoepe 1995) der Einnahme der doppelten Dosis an nur jedem zweiten Tag vorzuziehen (Patrono et al. 2005), damit eine mindestens 95%-ige Hemmung der TxA₂-Synthese erreicht werden kann (Patrono et al. 1985).

2.2.4 Stellenwert der ASS-Therapie

Eine Primärprävention mit ASS wird bei Patienten mit einem erhöhten kardiovaskulären Risikoprofil empfohlen, wie fortgeschrittenes Patientenalter, positive Familienanamnese, arterieller Hypertonus, Diabetes mellitus oder langjähriger Nikotinkonsum (Hennekens, 2002). In den letzten Jahren wurden auch unzählige Studien über die Rolle der ASS in der sekundären Prävention bei den Patienten mit koronarer, zerebraler und peripherer Atherosklerose durchgeführt. Eine Metaanalyse dieser Daten durch die „Antiplatelet Trialists' Collaboration“ wies darauf hin, dass nur bestimmte Patientengruppen von ASS profitieren. Die ISIS-2-Studie (Second International Study of Infarct Survival, 1998), durchgeführt mit insgesamt 17187 Patienten, hat eindeutig gezeigt, dass die Patienten, bei denen innerhalb von 24 Stunden nach Myokardinfarkt mit einer ASS-Therapie begonnen worden war, wiesen nach fünf Wochen eine signifikante Reduktion der vaskulären Mortalität (um 23%) auf, inklusiv Reinfarkt und Apoplex. Darüber hinaus ergab eine Metaanalyse von 32 Studien, in denen ASS zusätzlich zu einer thrombolytischen Therapie nach Myokardinfarkt verabreicht worden war, eine signifikante Abnahme von Reokklusionsrate (14%) und ischämischen Ereignissen (16%) (Roth et al.1975).

Bei instabiler Angina pectoris zeigte sich auch eine signifikante Senkung der Häufigkeit eines Myokardinfarktes bzw. eines kardiovaskulären Todes (Antry et al.200). In einer US Physicians´ Health Study (Primary Prevention Trial) wurde unter Patienten mit Diabetes mellitus eine Reduktion von Myokardinfarkt in 44% der Fälle im Vergleich zu Placebo beobachtet (Steering Committee of the Physicans´Health Study Research Group 1989). Während der Vorteil der ASS-Therapie für Patienten mit thromboembolischem Risiko im Kurzzeitverlauf gut dokumentiert ist, scheint aber im Langzeitverlauf weniger gesichert zu sein. Nach Myokardinfarkt konnte bisher kein sicherer Vorteil der ASS-Behandlung gegenüber Placebo gezeigt werden, hinsichtlich Gesamtmortalität, plötzlichen Todes, nicht-fatalem Myokardinfarkt bzw. nicht-fatalem Apoplex (Zimmermann und Hohlfeld). Die HOT-Studie (Hypertension Optimal Treatment) zeigte unter ASS-Behandlung bei verminderter Häufigkeit eines im Krankenhaus diagnostizierten Myokardinfarktes sogar ein vermehrtes Auftreten infarkt-typischer EKG-Veränderungen (Q-Wellen) ohne Auswirkung auf die Mortalität (Hansson et al. 1998). Da das klinische Beschwerdebild im Rahmen eines Myokardinfarktes sehr variabel sein kann, wurden in epidemiologischen Untersuchungen bei über 25% der Infarktpatienten atypische Symptome bzw. fehlende Thoraxschmerzen beschrieben. Die Deutung von EKG- bzw. Serumparameter ist deshalb nicht unproblematisch. Unter Ausschluss von KHK-Patienten mit vorangegangenen Myokardinfarkt ist bei chronischer Angina pectoris im Langzeitverlauf nur eine tendenziell geringere Gesamtmortalität unter ASS-Behandlung (75-100 mg/die) zu beobachten, ohne ein statistisch signifikantes Niveau zu erreichen (Juul-Möller et al.1992). Patienten nach einer ACB-OP profitieren im Vergleich mit anderen Patientenkollektiven noch weniger (ATC 2002) und weisen eine ausgeprägte ASS-Resistenz auf (Zimmermann et al.2003), vermutlich wegen einer hohen residualen Plättchenaktivität (Bevilacqua et al. 2009). Es hat sich gezeigt, dass die Offenbleibensrate des aortokoronaren Bypasses unter ASS-Therapie, nur im ersten postoperativen Jahr verbessert werden kann, nach Ablauf von zwei Jahren kann leider kein Vorteil (weder in Hinsicht auf das Offenbleiben der Bypassgefäße, noch auf die Mortalität) nachgewiesen werden (Antiplatelet Trialists´Collaboration und Antithrombotic Trialists´Collaboration 2002). So sind im ersten Jahr noch 80 %, nach 5 Jahren noch etwa 75 % und nach 10-15 Jahren nur noch schätzungsweise 50 % der Bypässe durchgängig. Aus diesem Grund wird eine myokardiale Rekoronarrevaskularisation bei etwa 10 % aller Bypasspatienten innerhalb der ersten 10 Jahre notwendig (Fitzgibbon et al.1996; Weintraub et al.1994). Um einem frühen Verschluss des Transplantates vorzubeugen, ist es daher von besonderer Bedeutung, die

thrombozytären Funktionen weitgehend zu unterbinden. Aus diesem Grund wird empfohlen, die ASS-Therapie vor der Operation nicht zu unterbrechen und schon bereits am ersten postoperativen Tag wieder einzuleiten. Dabei zeigt sich kein erhöhtes Risiko einer postoperativen Blutung (Kamran et al. 2008). Auch für andere Patientenkollektive wurde eine unzureichende oder nicht vorhandene antithrombozytäre Wirkung von ASS beschrieben. Zum Beispiel, konnte in der SALT-(Swedish Aspirin Low-dose Trial) (Roux et al. 1992), CAST- (Cardiac Arrhythmia Suppression Trial) (Epstein et al.1991) und IST -(International Stroke Trial) Studie (International Stroke Trial Collaborativ Group.1997) für ASS in konventioneller Antiplättchendosi (um 100 mg/die) kein bedeutender Einfluss auf das Risiko für Schlaganfall oder Mortalität im Beobachtungszeitraum von bis zu 2 Jahren gezeigt werden. Lediglich zeigte sich in der ESPS-(European Stroke Prevention Study)-I Studie im Langzeitverlauf (2 Jahre) nach Apoplex bei einer vergleichsweise hohen ASS-Dosis von 975 mg/die in Kombination mit Dipyridamol eine Reduktion der Mortalität (ESPS-Group 1990).

2.3 „ASS-Resistenz“ oder ASS-Non-Response

2.3.1 Definition und Häufigkeit der ASS-Non-Response

Wie die o.g. Studien zeigten, ist eine Regression oder Beseitigung einer bestehenden Atherosklerose nicht zu erwarten (Okraïnec et al., 2005). Insofern überrascht es nicht, dass viele Patienten trotzdem kardiovaskuläre Ereignisse erleiden. In solchen Fällen spricht man von einem „Therapieversagen“. Das heißt, dass bei manchen Patienten unter ASS-Therapie die zu erwartende Hemmung der Thrombozytenfunktion bzw. TXA₂-Synthese nicht erfolgt. Diese Situation wurde in der Literatur als „ASS-Resistenz“ bezeichnet, was eine heiÙe Diskussion zur Folge hatte. Bei der ASS-Resistenz handelt es sich eher um eine klinische Beobachtung (oder Vermutung) und nicht um ein pharmakologisch definiertes Phänomen. Resistenz im pharmakologischen Sinne ist z.B. für Antibiotika und Zytostatika bekannt. Die unzureichende oder aufgehobene Wirkung von ASS könnte man vielleicht als „nonresponsiveness“ bezeichnen (Zimmermann und Hohlfeld). Doch fehlt in der deutschen Sprache ein passender Begriff. Klinisch könnte die ASS-Non-Response definiert werden als ein Versagen der ASS, Patienten vor thromboembolischen Gefäßverschlüssen zu schützen trotz regelmäßiger ASS-Einnahme in empfohlener Dosierung 75-325 mg/d (Braunwald et al., 2002; Hankey und Eikelboom, 2006). Also, eine präzise Definition, die auf gesicherten diagnostischen Kriterien oder Normalwerten für

die benötigte Thrombozytenhemmung durch ASS basiert, gibt es bisher jedoch nicht. Deswegen wurde die Häufigkeit der ASS-Non-Response abhängig von der Untersuchungsmethode mit 5–45% bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit (McKee et al.2002) und sogar mit 5–65% nach Schlaganfall (Mason et al.2005) beziffert. Die variierenden Zahlen beruhen darauf, dass Untersuchungen an unterschiedlichen Patientenkollektiven und mit verschiedenen Nachweisverfahren durchgeführt wurden. Aus diesen Gründen sind manche Studien nicht vergleichbar (Howard 2002). Zusätzlich ist – wie bei anderen Pharmaka – auch bei ASS mit einem schwer zu beziffernden Anteil von Non-Compliance zu rechnen.

2.3.2 Überblick über die ASS-Non-Response-Studien

Die ersten Studien über ASS-Non-Response an gesunden Probanden erschien 1983 (FitzGerald et al. 1983a). Anfang der 90er Jahre berichtete Helgason et al. in verschiedenen Studien, dass bis zu 25% der Patienten, die zur Prophylaxe eines erneuten Schlaganfalls mit 325 mg ASS/die therapiert wurden, nur eine partiell gehemmte Thrombozytenaggregation aufwiesen (Helgason et al. 1993a, Helgason et al.1993b, Helgason et al.1994). Grottemeyer et al. teilten eine Gruppe von 180 Patienten, die wegen eines zurückliegenden ischämischen Insults 1.500 mg ASS/die, verteilt auf drei Tagesdosen, erhielten, anhand eines Plättchenreaktivitätstests in ASS-Responder (67%) und ASS-Non-Responder (33%) ein. Mit diesen Patienten führte diese Arbeitsgruppe eine Pilot-Studie zur Untersuchung eines möglichen Zusammenhangs einer ASS-Non-Response und dem Auftreten klinischer Ereignisse durch. Während eines Beobachtungszeitraums von zwei Jahren war die Häufigkeit vaskulärbedingter Ereignisse bei Non-Respondern mit 40% fast zehnmal höher als bei Respondern (4,4%) (Grottemeyer et al.1993). In einer vor kurzem publizierten Metaanalyse von 20 prospektiven Studien mit insgesamt 2930 Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen wurden 810 Patienten (ca 28%) als Non-Responder identifiziert. In fast allen Studien wurde eine ASS-Therapie in einer Dosierung von 75 bis 325 mg/die durchgeführt, in 6 Studien wurden adjuvant noch andere antiaggregatorische Pharmaka gegeben. Klinisch relevante kardiovaskuläre Ereignisse traten bei 41% der Patienten, 5,7% der Patienten verstarben. Ein akutes Koronarsyndrom konnte man in 39,4% der Fälle beobachten. Interessant, dass diese kardiovaskulären Ereignisse überwiegend bei Patienten mit männlichem Geschlecht und vorbestehender Niereninsuffizienz eintraten. Non-Responder, welche eine adjuvante Therapie mit Clopidogrel oder Tirofiban bekommen haben, zeigten auch keinen Vorteil betreffend das klinische Outcome in der Langzeitbehandlung. Schlussfolgerung ist, dass ASS-Non-Responder

ein sehr hohes Risiko für schwerwiegende vaskuläre Ereignisse, im Vergleich zu ASS-Respondern, aufweisen. (George Krasopoulos et al. 2008).

2.3.3 Mögliche Ursachen von ASS-Non-Response

ASS-Non-Response wurde bisher ausschließlich in klinischen bzw. humanpharmakologischen Studien untersucht. Experimentelle Modelle, die eine detaillierte Analyse der molekularen Mechanismen ermöglichen, gibt es nicht. Entsprechend sind die bisherigen Konzepte zur Erklärung von ASS-Non-Response vielfach hypothetisch. Zunehmend wird aber deutlich, dass sowohl pharmakokinetische als auch pharmakodynamische Mechanismen beteiligt sind.

Pharmakokinetische Mechanismen wie z.B. eine individuelle geringe Bioferfügbarkeit (z.B. durch eine geringere Resorption oder schnellere präsystemische Deacetylierung), die angesichts der üblicherweise verwendeten geringen Dosierung um 100mg/die nicht mehr immer eine ausreichende TxA₂-Synthesehemmung erlaubt (Benedek et al. 2003). Außerdem wird die Bioverfügbarkeit von ASS durch Arzneimittelwechselwirkungen beeinflusst: nach Gabe von Opiaten, z.B. im Rahmen der Akut-Therapie des Myokardinfarktes, kann die enterale Resorption einer gleichzeitig gegebenen oralen Dosis von ASS infolge verzögerter Magenpassage erheblich beeinträchtigt sein. Eine Dosissteigerung von ASS kann - muss aber nicht – eine ASS-Non-Response bei eingeschränkter Bioverfügbarkeit überwinden. Tatsächlich ergab eine Studie an Patienten mit pAVK, dass bei vier von neun als ASS-Non-Responder eingestuften Patienten durch Dosiserhöhung von 100 auf 300 mg erwartete Thrombozytenfunktionshemmung erreicht wird (Wong et al. 1996). Außerdem könnte man sich einen anderen Mechanismus der pharmakokinetischen ASS-Non-Response vorstellen. Normalerweise beträgt die tägliche Regenerationsrate von Thrombozyten etwa 10%. Da die Plasma-Halbwertszeit von ASS kurz ist, entwickelt sich innerhalb des eintägigen Dosierungsintervalls von ASS ein kleiner Anteil neu gebildeter, zur TxA₂-Synthese fähiger Thrombozyten (Perneby et al.2006). Nach Blutungen, Operationen oder während der Regenerationsphase im Anschluss an eine myelosuppressive Therapie kann die Neubildung von Thrombozyten aber erheblich beschleunigt sein. Entsprechend der schnellen Regeneration ist hier am Ende des eintägigen Dosierungsintervalls von ASS auch mit einem erhöhten, potenziell thromboserelevanten Anteil frischer Thrombozyten mit erhaltener TxA₂-Synthese zu rechnen (Hohlfeld 2006).

Genetische und erworbene Veränderungen: Nach epidemiologischen Daten aus der Framingham-Studie sind individuelle Unterschiede in der Thrombozytenfunktion zu 20-30% auf

genetische Faktoren zurückzuführen. Dementsprechend wurde nach *genetischen Polymorphismen* gesucht, welche die thrombozytäre Sensitivität gegenüber ASS beeinflussen. So wurde eine statistische Assoziation von ASS-Non-Response mit dem PI A1/A2-Polymorphismus des GPIIb/IIIa-Integrins (Macchi et al.2002), sowie mit Einzelnucleotid-Polymorphismen im thrombozytären ADP-Rezeptor (P2Y12) (Jefferson et al.2005) gezeigt. Möglicherweise laufen in Gegenwart dieser Mutationen TxA₂-unabhängige Aktivierungsmechanismen verstärkt ab, so dass die Hemmung des TxA₂-Systems weniger effektiv die Thrombozytenaktivierung hemmt („Pseudoresistenz“) (Hohlfeld 2006). Mehrere Punktmutationen wurden auch bei der Suche nach Polymorphismen im COX-1-Gen indentifiziert (Halushka et al.2003). Jedoch war keine davon mit einer verminderten Sensitivität gegenüber der Hemmung durch ASS assoziiert.

Die Beobachtung, dass Thrombozyten neben der COX-1 manchmal auch die „induzierbare“ *Isoform COX-2* enthalten (Zimmermann et al.2003, Weber et al. 1999), hat zur Vermutung geführt, dass auch dies ein Mechanismus für ASS-Nonrespons sein könnte. Diese Hypothese ist insofern plausibel, da ASS mit ca. 150-facher Selektivität bevorzugt die COX-1 hemmt. Klinische Hinweise auf eine Beteiligung von COX-2 an der thrombozytären Thromboxansynthese wurden ebenfalls mitgeteilt (Rocca et al.2002). Andererseits konnte die TxA₂-Synthese COX-2 enthaltender Thrombozyten durch selektive Inhibitoren der COX-2 (Coxibe) nicht gehemmt werden (Zimmermann et al. 2003). Auch ist unsicher, ob das in Thrombozyten z.B. durch Western Blot nachweisbare COX-2-Protein überhaupt als funktionell aktives Enzym vorliegt (Censarek et al.2004). Die mitunter vermutete Beteiligung einer thrombozytären COX-2 im Rahmen der ASS-Non-Response ist folglich hypotetisch und unbewiesen (Hohlfeld 2006). Prinzipiell besteht auch die Möglichkeit, dass Modifikationen der thrombozytären COX-1 auf Proteinebene die Hemmung durch ASS beeinträchtigen. So kann Tyrosin 385 im aktiven Zentrum der COX-1 nitriert werden (Deeb et al.2006). Leider ist es nicht bekannt, ob dies mit der COX-Hemmung durch ASS interferiert. Experimentelle Hyperglykämie bei Streptozotocin-diabetischen Ratten beeinträchtigt die Hemmung der Thrombozytenaktivierung durch ASS (Deeb et al.2006). Dem könnte eine Glykierung der COX-1 in Thrombozyten zugrunde liegen. *COX-1-Modifikationen auf Proteinebene* als Ursache für ASS-Non-Response sind daher ebenfalls noch unbewiesene Hypothesen.

In jüngster Zeit wird diskutiert, dass die *residuale Plättchenreaktivität (RPR)* die Rate der thrombotischen Ereignisse erhöht und als Ursache der ASS-Resistenz gesehen werden könnte (Francesco et al.2007).

Pharmakodynamische Mechanismen (Arzneimittelinteraktionen): Sofern ASS den molekularen Wirkort, die COX-1, erreicht, sind ebenfalls Mechanismen vorstellbar, die mit der Hemmung dieses Enzyms interferieren, wenn z.B. der Angriffspunkt von ASS am COX-1-Enzym durch andere Pharmaka blockiert wird. Als Ergebnis wäre die irreversible Hemmung der TxA₂-Synthese durch ASS verhindert. Für eine solche Wechselwirkung kommen in erster Linie Pharmaka in Betracht, die ihrerseits Affinität zum aktiven Zentrum der COX-1 haben, wie z.B. NSAID. Deren Wirkung basiert im Unterschied zu ASS aber auf einer reversiblen Enzymhemmung. Folgender Wechselwirkungsmechanismus wäre denkbar: Im Rahmen der antithrombozytären Behandlung mit ASS sind nur innerhalb eines kurzen Zeitintervalls von 15-30 min nach Substanzgabe effektive ASS-Konzentrationen vorhanden. Wird während dieser Zeit die thrombozytäre COX-1 durch andere Analgetika inhibiert, verhindert dies auch die (irreversible) Acetylierung des Enzyms durch ASS. Wenn diese Analgetika das aktive Zentrum der COX-1 später (nach Stunden) wieder verlassen, ist keine effektive Konzentration von ASS mehr vorhanden. Eine Erholung der COX-1 Aktivität und der thrombozytären TxA₂-Synthese ist die Folge. Dieses Konzept wurde durch die Studie von Catella Lawson et al. an gesunden Probanden bestätigt. Hier wurde durch die Verabreichung von NSAID (Ibuprofen zwei Stunden vor ASS die erwartete Hemmung der Thrombozytenfunktion erheblich vermindert (Catella Lawson et al.2006). Ibuprofen beeinflusste die Wirkung von ASS nicht, wenn es zwei Stunden nach ASS verabreicht wurde. Entsprechende Interaktionen wurden im Unterschied hierzu jedoch nicht unter Diclofenac, Paracetamol und Rofecoxib beobachtet. Eine weitere Arbeit von Capone et al., ebenfalls an den Thrombozyten gesunder Probanden berichtete über eine Interferenz zwischen dem Antiphlogistikum Naproxen und ASS (Capone et al.2005). Eine spätere prospektive Studie, durchgeführt schon an den KHK-Patienten, welche sich einer ACB-Operation untergezogen haben, hat gezeigt, dass bei einem Teil der o.g. Patienten eine verminderte Sensitivität der Thrombozyten gegenüber anderen NSAID (ebenfalls COX-Inhibitoren) besteht (Kim Un-Hir, Prof. Dr. Thomas Hohlfeld 2007).

Fehlende Compliance: Die fehlende Compliance ist wohl die einfachste, aber reale Ursache der ASS-Non-Response. Nach Angaben von Schwarz et al. zeigte sich unter ASS-Non-Respondern 8,4% der Patienten mit Compliancestörung (Schwarz et al.2008).

Aktivierung von Thrombozyten über TxA2-unabhängige Mechanismen, die prinzipiell durch ASS nicht beeinflusst werden können: Eine andere mögliche Ursache scheint die Existenz alternativer Stoffwechselwege für die TxA2-Synthese zu sein. TxA2 wird auch von den Monozyten und Makrophagen produziert (Cerbone et al.2008). Neben TxA2 sind auch andere Mediatoren wie z.B. Kollagen, ADP, Katecholamine und Thrombin in der Lage eine Plättchenaggregation zu induzieren, was zum Teil gewisse Formen der ASS-Nonreponse erklären könnte. Außerdem scheinen Anzeichen einer chronisch systemischen Entzündung und ein gestörtes oxidatives/anti-oxidatives Gleichgewicht zur „ASS-Resistenz“ beizutragen. Möglicherweise spielt die COX-unabhängige Bildung von proaggregatorisch wirksamen Isoprostanen eine zentrale Rolle (A. Bierend, Prof. Dr. med. T. Eschenhagen 2008)

ASS-Non-Response und Diabetes mellitus: Die Untersuchungen zeigten, dass Diabetika von Typ II trotz kontinuierlicher ASS-Therapie im Rahmen der primären oder sekundären Prevention thromboembolischer Ereignisse eine sehr hohe Rate von ASS-Non-Response aufweisen. Die Ursachen dafür sind möglicherweise außer einer erhöhten TxA2-Synthese eine Plättchendegranulation (Davi et al.1996, Cerbone et al.2008), das Vorhandensein großer Zahl von „jungen“ Thrombozyten im Blut, Thrombozytenfunktionsstörungen auf dem Boden einer gesteigerten proinflammatorischen Aktivität, Endothelläsionen und Arzneimittelinteraktionen (Cerbone et al. 2008). Interessant ist, dass Aspirin einen positiven Effekt von ACE-Hemmern bei Diabetika (durch die bradykininabhängige Hemmung der Vasodilatation) starkt dämpft (Cerbone et al.2008).

Andere Faktoren: Es scheinen auch andere Faktoren wie Zigarettenrauchen, Hypercholesterinämie etc eine Rolle zu spielen (Cerbone et al.2008).

2.4 Clopidogrel-Resistenz bzw. Non-Response

Über das Phenomen der „Clopidogrel-Resistenz“ ist bisher weniger publiziert als über die „Aspirin-Resistenz“. Auch hier unterscheidet man zwischen einem Laborphänomen, dem Ausbleiben einer adäquaten Hemmung der ADP-induzierten Plättchenaggregation, und dem Unvermögen rezidivierende arterielle Gefäßverschlüsse zu verhindern.

2.4.1 Bestimmung der Clopidogrel-Non-Response

Eine standartisierte Labormethode zur Bestimmung der Clopidogrel-Non-Response gibt es bislang nicht. Da Clopidogrel spezifisch einen der beiden ADP-Rezeptoren blockiert, wird derzeit

am häufigsten die ADP-stimulierte Plättchenaggregation zur Beurteilung der Effektivität einer Clopidogreltherapie verwendet. Inzwischen existieren auch ein „Point of Care Test“ zur Überprüfung der Clopidogreltherapie und die flowzytometrische VASP-Methode (Vasodilatator-stimulierendes Phosphoprotein), die direkt die Hemmung des P2Y₁₂ Rezeptors nachweist.

2.4.2 Klinische Bedeutung der Clopidogrel-Non-Response

Die Häufigkeit der Clopidogrel-Non-Response variiert abhängig von der Untersuchungsmethode zwischen 5 und 44%. Der protektive Effekt von Clopidogrel war in der multizentrischen Studie “Clopidogrel in Unstable Angina to prevent Recurrent Events” (CURE) nachweisbar (Mehta et al. 2001, Zylka-Menhorn, 2001). Ebenso wurde die Wirksamkeit von Clopidogrel an mehr als 20.000 Patienten in der CAPRIE-Studie (“Clopidogrel versus Aspirin in Patients at Risk of Ischaemic Events”) untersucht. Es zeigte sich, dass die Behandlung mit Clopidogrel das Risiko eines kardiovaskulären Ereignisses im Vergleich zur Standardtherapie mit Acetylsalicylsäure (ASS) signifikant verminderte. Auch die TIMAD-Studie zeigte eine signifikante Regression der diabetischen Retinopathie bei Patienten mit Diabetes mellitus unter Ticlopidin-Therapie (TIMAD Study Group 1990). Bei Patienten mit Zustand nach ischämischem Schlaganfall und mindestens einem weiteren kardiovaskulären Risikofaktor ist die Kombination von Clopidogrel plus ASS nur minimal effektiver in der Rezidivprophylaxe als Clopidogrel allein. Sie ist mit einem deutlich erhöhten Risiko lebensbedrohlicher Blutungen behaftet und deshalb nicht indiziert (Gent et al. 1996, Studien: CAPRIE, PCI-CURE, CHARISMA, CLASSICS). Eine kürzlich durchgeführte Revue von 25 Studien mit insgesamt 3688 Patienten zeigte, dass 21% dieser Patienten Clopidogrel-Non-Responder waren. Sie hatten eine sehr hohe Inzidenz an kardiovaskulären Ereignissen. Es wurde gemerkt, dass die Dosissteigerung von 75 auf 600 mg Clopidogrel/die das kardiovaskuläre Risiko deutlich reduzierte (Feher et al. 2008). Das bestätigte sich auch in einer großen prospektiven Studie von Snoep et al (Snoep et al.2007).

2.4.3 Ursachen der Clopidogrel-Non-Response

Die Ursachen der Clopidogrel-Non-Response sind multifaktoriell anzusehen. Einerseits, neben einer mangelhaften Compliance, wird diskutiert, ob die eine *Erhaltungsdosis* mit 75 mg Clopidogrel *zu niedrig ist*, da ca. 85% der zugefügten Clopidogrelmenge durch Esterasen zum inaktiven Carboxylderivat hydrolysiert wird. Gleichzeitig mehren sich aber auch die Berichte über eine beträchtliche *interindividuelle Variabilität* des Wirkungsgrades von Clopidogrel und die ungenügende Resorption im Magen-Darmtrakt als Ursachen von Non-Response (Seelig et al.2007). Eine unterschiedliche *Aktivität des Cytochrom-P450-Isoenzym 3A4 (CYP3A4)*, das für

die Bindung des aktiven Clopidogrelmetaboliten wichtig ist, wird auch als ursächlich für die Clopidogrelresistenz anzusehen (Lau et al.2004). Eine *Wechselwirkung* mit anderen Medikamenten (Statine wie Atorvastatin u.a.), die ebenfalls von diesem Enzymsystem abgebaut werden, könnte eine Clopidogrel-Non-Response verursachen (Neubauer et al.2003, Lau et al.2003, Tafreshi et al.2006). Auch *genetische Ursachen* wie Polymorphismen des ADP-P2Y₁₂-Rezeptor-Gens und des P450 Enzyms sowie eine *verminderte Dichte des P2Y₁₂ Rezeptors* auf der Thrombozytenoberfläche werden diskutiert. Patienten mit genetisch verminderter Aktivität von Enzym CYP2C19 (ermöglicht Umwandlung des Prodrugs Clopidogrel in seinen aktiven Metabolit) wiesen in einigen Studien bei gleichzeitiger Einnahme eines CYP2C19-Inhibitors wie ein PPI-Inhibitor (Z.B. Omeprazol) eine Clopidogrel-Non-Response. Andererseits gibt es eine ganze Reihe von Studien, welche diese Zusammenhänge nicht feststellen konnten (Angiolillo et al.2005 und 2007, Lev et al.2007, Coccheri et al.2007). Eine *gesteigerte Plättchenaktivierung* wie sie beim Diabetiker (besonders unter Insulin-Therapie) vorliegt, stellt eine mögliche Ursache für ein „Therapieversagen“ der Clopidogrelbehandlung dar (Angiolillo et al.2006/2007, Sibbing et al.2006). Außerdem spielen, vieleilleicht, *Funktionsstörungen* der Thrombozyten und ein *gesteigerter Thrombozytenumsatz* eine Rolle (Seelig et al.2007).

3 Fragestellung

Eine sehr hohe Inzidenz an ASS-Non-Respondern bei Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen macht notwendig die Aspirin-Nonresponse genauer zu untersuchen. Insbesondere in der Bypasschirurgie scheint dieses Problem sehr wichtig zu sein, da diese Patientenpopulation sehr schlechte Therapieergebnisse, betreffend kardiovaskuläre Komplikationen unter antiaggregatorischer Therapie mit ASS in der postoperativen Phase, aufweist. Die hohe Anzahl von ACB-Operationen erleichtert die Patientenrekrutierung. Die Entwicklung von Konzepten, die einen Wirkverlust von ASS erklären können und Ansätze zu deren Überwindung liefern können, ist daher von besonderem Interesse.

Diese Studie ging der Frage nach, ob die ASS-Resistenz, bei Patienten unserer Klinik für Thorax- und Gefäßchirurgie mit koronarer Herzkrankheit und Indikation zur ACB-Operation, nachweisbar ist. Außerdem wäre interessant zu wissen, welche Faktoren dabei von besonderer Bedeutung sind. Die Untersuchung fokussiert sich auf die Messung der Thrombozytenaggregation nach Born bei Patienten, welche sich einer elektiven oder notfallmäßigen aortokoronaren Bypass-Operation und /oder einer Klappenoperation unterzogen. Es waren wiederholte Messungen während des mehrtägigen stationären Aufenthalts vorgesehen. Die Operationen wurden entweder am schlagenden Herzen (in „off-pump“-Verfahren oder OPCAB) oder unter Einsatz der Herz-Lungen-Maschine (HLM) durchgeführt.

Folgende Teilfragen wurden betrachtet:

1. Wie ist die Häufigkeit der ASS-Non-Response zu den unterschiedlichen Messpunkten: prä-, früh-post- und spät-postoperativ?
2. Gibt es individuelle Unterschiede in der Effektivität der ASS-Wirkung?
3. Wie stabil ist die ASS-Non-Response?
4. Ist die ASS-Non-Response möglicherweise durch fehlende Compliance oder zu geringe Dosis bedingt?
5. Kann eine ASS-Non-Response durch Co-Medikation mit Clopidogrel aufgehoben werden?
6. Hat die Operation mit HLM den Einfluss auf Häufigkeit der ASS-Resistenz?
7. Gibt es eine Abhängigkeit der ASS-Non-Response von der präoperativen Thrombozytenreaktivität?
8. Lassen sich aus Co-Morbidität und Co-Medikationen mögliche Ursachen für ASS-Non-Response ableiten?

4 Material und Methoden

4.1. Thrombozytenaggregometrie nach Born

4.1.1 Testprinzip

Bei der Thrombozytenaggregometrie nach Born (1962) wird unter Verwendung verschiedener Aggregationsagonisten die Thrombozytenaggregation turbidimetrisch bestimmt. Hierbei wird ein Infrarotlichtstrahl durch eine Thrombozytensuspension geleitet und die Änderung der Lichttransmission nach Induktion der Thrombozytenaggregation über einen Schreiber aufgezeichnet. Bei der Analyse wird zunächst ein Aggregometerleerwert bestimmt indem man mittels plättchenarmen Plasmas (PPP) das Gerät auf eine 100%-Basislinie eicht. Anschließend folgt eine Eichung auf eine 0%-Basislinie mittels plättchenreichen Plasmas (PRP). Zur Bestimmung der Thrombozytenaggregometrie werden verschiedene Induktoren in das plättchenreiche Plasma pipettiert. Unter standardisierten Bedingungen (37°C) rotiert ein Rührmagnet (1000 U/min.) in einer Küvette mit PRP im Strahlengang eines Photometers mit monochromatischem Licht der Wellenlänge 546 nm. Das Gerät zeichnet für jeden Kanal getrennt die Änderung der Lichttransmission für mindestens zehn Minuten auf. Der Wert des Anstiegswinkels (slope) wird mittels elektronischer Differenzierung für jeden Kanal einzeln ermittelt. Er basiert auf dem Prinzip der linearen Regression bezugnehmend auf den höchsten Aggregationsanstieg in %/min. (Bio/Data Corp. 1998). Zur Beurteilung eines Aggregationsmusters wird in erster Linie das Ausmaß der Aggregationsgeschwindigkeit (slope), das Ausmaß der Aggregation, die Form der Kurve (Lag-Phase bzw. das verzögertes Ansprechen) und das Ausmaß einer eventuellen Desaggregation (Umkehrung der Aggregation) bewertet.

4.1.2 Patienten

Untersucht wurden 102 Patienten der Klinik für Herz- und Thoraxchirurgie der FSU Jena, bei denen verschiedene Operationsverfahren durchgeführt wurden. Einmal die reine ACB-Operation, dann eine kombinierte Klappen- und ACB-Operation und nur einige Patienten erhielten eine isolierte Klappenoperation, da es keine Indikation zur myokardialen Koronarrevaskularisation nach der intraoperativen Inspektion mehr bestand.

Fast alle Patienten erhielten routinemäßig zur Prävention kardiovaskulärer Zwischenfälle postoperativ täglich 100 mg ASS per os. Der Thrombozytenaggregationsstatus wurde bei den

Patienten mittels der Thrombozytoaggregometrie nach Born präoperativ, am 1.- (früh postoperativ) und 6 ± 1 .- (spät postoperativ) postoperativem Tag erhoben. Bei einigen Patienten erfolgte die Messung unmittelbar postoperativ am Operationstag.

Ausgeschlossen waren Patienten, welche ambulant nicht-saure antipyretische Analgetika wie Metamizol, Phenazon, Propyphenazon u.a. eingenommen haben oder bei welchen aufgrund rheumatologischer oder anderer Erkrankungen jegliche chronische Schmerztherapie (inklusive Opioidtherapie) durchgeführt worden war.

4.1.3 Erfasste Merkmale

Bei stationärer Aufnahme wurden außer den persönlichen Angaben zum Patienten, auch Größe, Gewicht, Blutgruppe, ambulante Medikamenteneinnahme, Angaben zu den durchgemachten Erkrankungen und aktuelle Diagnose registriert. Außerdem wurden kardiale Risikofaktoren wie eine arterielle Hypertonie, chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD), pAVK, ein Diabetes mellitus, Fettstoffwechselstörungen, neurologische Dysfunktionen, Zustand nach Gefäßoperationen, Alkohol- oder Tabaksucht zusammengefasst. Des Weiteren wurden wichtige Laborparameter erhoben: kleines Blutbild, Glucose, C-reaktives Protein (CRP), Gerinnungsfaktoren einschl. Fibrinogen und AT III, Herzmarker, Nieren- und Leberwerte, Elektrolyte, Schilddrüsenparameter, Fette u.a.

4.1.4 Blutentnahme

Die Blutentnahme erfolgte prä- oder postoperativ aus einer peripheren Vene nach einer kurzen Stauung bzw. aus einem zentralen venösen oder arteriellen Zugang. Es wurde eine Vakuum-Entnahme-Technik verwendet. Bei dieser Entnahmetechnik wurde darauf geachtet, keine übermäßige Saugwirkung zu produzieren, um eine artifizielle Hämolyse zu vermeiden. Ebenso wurde darauf geachtet, dass die Stauung der peripheren Vene unmittelbar vor Entnahme gelockert oder möglichst ganz entfernt wurde, um die Thrombozytenaktivierung zu minimieren. Die ersten so gewonnenen 5 ml Blut wurden verworfen oder für andere Laborbestimmungen verwendet. Für die Thrombozytenaggregation wurde das Blut in eine 10 ml „Starstedt“ Monovette abgenommen, welche mit Natriumcitrat als Antikoagulanzen versehen war (9 Teile Blutplasma, 1 Teil 3,8% Natriumcitrat als Antikoagulanzen). Die Blutentnahme wurde mit einer Kanüle der Größe 21 G entnommen. Der Innendurchmesser entsprach 0,8 mm.

4.1.5 Durchführung der Aggregationsmessungen

Nach Blutentnahme erfolgte die Herstellung des *plättchenreichen Plasmas (PRP)* innerhalb eines Zeitraumes von maximal 30 min. Der gesamte Aggregationstest fand bis maximal eine Stunde nach Blutentnahme statt. Für die PRP-Gewinnung wurden die Blutproben für 12 min bei 240 x g zentrifugiert (Biofuge stratos; Heraeus Instrumente). Das überstehende PRP wurde vorsichtig abpipettiert und in ein Polypropylen-Teströhrchen überführt. Das verbliebende Blut wurde zwecks PPP-Gewinnung für 10 min bei 4.700 x g zentrifugiert. Eine Einstellung der Thrombozytenzahl im PRP auf einen einheitlichen Wert erfolgte nicht. Die Thrombozytenaggregation im PRP wurde mit einem Platelet Aggregation Profiler PAP4 (BioData Corp.) in vier parallelen Messplätzen durch Zusatz von AA (Endkonzentration 1,642 mM) oder ADP (3 und 30 µM) ausgelöst. Eine AA-Gebrauchslösung (5 mg/ml = 16,42 mM; mölab GmbH, Hilden) wurde entsprechend Firmenangaben hergestellt und portionsweise bei -20°C aufbewahrt. Eine 300 mM ADP-Stammlösung wurde durch Lösen von ADP-Dinatriumsalz (Sigma Aldrich Chemicals, Taufkirchen) in 0,9 % Natriumchloridlösung hergestellt und portionsweise bei -20°C aufbewahrt. Die ADP-Endkonzentrationen im Test betragen 3 und 30 µM (siehe Tab. 4). Die Wirksamkeit von exogen zugesetzter ASS wurde nach Vorinkubation des PRP mit ASS (Endkonzentration 1 mM) für 1 min und anschließender Auslösen der Aggregation mit AA (1,642 mM) getestet. Eine 500 mM ASS-Stammlösung wurde unter Verwendung von D,L-Lysinacetylsalicylat (Bayer Vital AG, Leverkusen) in Aqua per injectionem hergestellt und bei -20°C aufbewahrt. Vor Einsatz wurde ein aufgetautes Aliquot 1:5 Aqua bidest verdünnt. Die ASS-Konzentration im Test betrug 100 µM (Tab. 4). Alle Aggregationskurven wurden über 10 min kontinuierlich aufgezeichnet. Typische Aggregationkurven sind in Abb. 6 dargestellt.

Tabelle 4: Aggregationsteste, die in PRP aller Patienten zu den genannten Messpunkten durchgeführt wurden. Nach Aufzeichnung der Basallinie (0 % Aggregation) wurde AA oder ADP zugesetzt und die Kurve für 10 min aufgezeichnet

Messkanal	Testzusammensetzung
1	450 µl PRP + 50 µl AA (16,42 mM)
2	450 µl PRP + 5 µl ASS (100 µM) + 50 µl AA (16,42 mM)
3	450 µl PRP + 50 µl ADP (300 µM)
4	450 µl PRP + 50 µl ADP (30 µM)

Nach Abschluss der Messungen wurde die maximalen Aggregationswerte (maximale Amplitude der Kurve) ermittelt. Als unzureichende Hemmung der AA-induzierten Aggregation wurde eine maximale Aggregation von $\geq 30\%$ gewertet (Abb. 6)

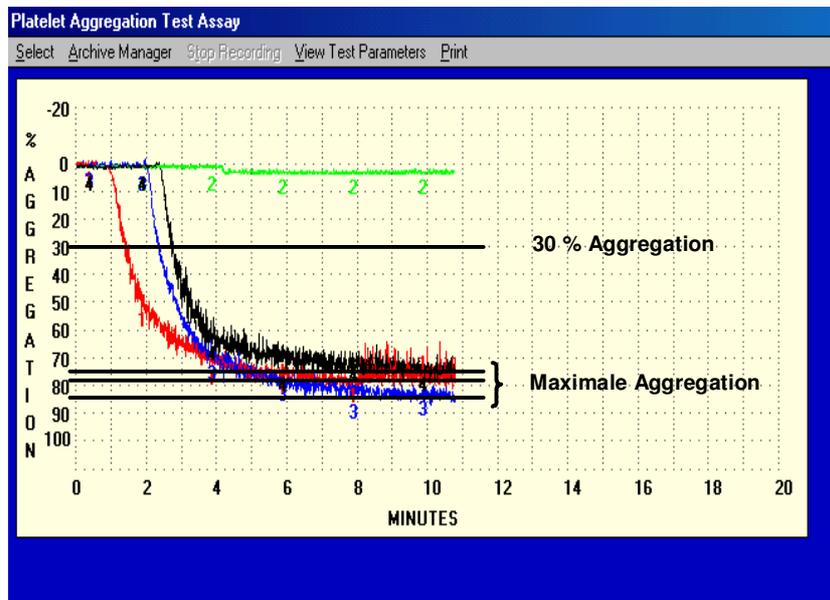


Abbildung 6: Beispiel für typische Aggregationskurven eines gesunden Probanden ohne ASS-Medikation: Kanal 1 (rot) = AA; Kanal 2 (grün) = exogen ASS + AA; Kanal 3 (blau) = 30 μ M ADP; Kanal 4 (schwarz) = 3 μ M ADP

4.1.6 Laborwerte

Daten von routinemäßig bestimmten Laborwerten wurden den Patientenakten entnommen.

4.1.7 Statistische Analyse

Die erhobenen Daten wurden mit Hilfe des Statistikprogramms SPSS Version 15.0 für Windows (SPSS Inc., Chicago) bearbeitet. Bei Gruppenvergleichen wurden die erhaltenen Daten mittels Kolmogorow-Smirnow-Test auf Normalverteilung geprüft und als Mittelwerte \pm Standardabweichung (SD) dargestellt. Unterschiede zwischen den Gruppen wurden entweder mittels ANOVA oder zweiseitigen t-Test nach Student auf Signifikanz geprüft. Ein p-Wert $< 0,05$ wurde als signifikant angesehen. Korrelationen zwischen Messdaten wurden mittels Korrelationsanalyse nach Pearson auf Signifikanz geprüft.

5 Ergebnisse

5.1 Allgemeine Charakterisierung der Patienten

Von 102 in die Studie eingeschlossenen Patienten konnten Daten nur für 99 Patienten über den gesamten Untersuchungszeitraum gewonnen werden (wegen dem Wechsel der Behandlungseinheit, der Verschiebung von Operation oder dem Tod der Patienten). 4 Patienten verstarben innerhalb des stationären Aufenthaltes. Die Studienpatienten (Tab. 4) waren überwiegend männlichen Geschlechts und älter als 60 Jahre. Es haben nur 19 Frauen (18,6%) an der Studie teilgenommen. Von den Frauen befanden sich die meisten in der Postmenopause. Alle Patienten (100%) hatten eine arterielle Hypertonie und 94,1% eine Hyperlipoproteinämie. Bei 43 Patienten (42,2%) fand sich ein Diabetes mellitus vom Typ II, 39 Patienten (38,2%) waren aktive Raucher. Weitere 16 Patienten (15,7%) gaben Nikotinabusus in der Vorgeschichte an. 37 Patienten (36,3%) hatten einen akuten Myokardinfarkt in der Anamnese. Bemerkenswert, dass von diesen Patienten nur 1 Patient einen Reinfarkt bekommen hatte. Bei 13 Patienten (12,7%) konnte man ein permanentes VH-Flimmern dokumentieren. 9 Patienten (8,8%) hatten als Nebendiagnose eine pAVK, 10 Patienten (9,8%) eine COPD, 22 Patienten (21,6%) eine Niereninsuffizienz unterschiedlicher Stadien. Neurologische Auffälligkeiten wiesen aufgrund der pAVK, des Diabetes mellitus oder des Apoplex 15 Patienten (14,7%) auf. Tab. 4 zeigt eine Übersicht zur Häufigkeit der Risikofaktoren im untersuchten Kollektiv sowie eine allgemeine Information über die o.g. Patienten.

Tab. 4: Demographische Daten und kardiovaskuläre Risikofaktoren des Patientenkollektivs (n = 102)

Alter, Jahre	68,6 ± 9,3
Größe, cm	170,1 ± 3,7
Gewicht, kg	80,1 ± 13,9
Männliches Geschlecht, n (%)	83 (81,4%)
Alter > 60, n (%)	82 (80,4%)
Hypercholesterolämie, n (%)	96 (94,1%)
Arterielle Hypertonie, n (%)	102 (100%)
Diabetes mellitus Typ II, n (%)	43 (42,2%)
BMI, kg/m ²	27,6±3,7
Übergewicht, n (%)	52 (51,0 %)
Adipositas, n (%)	27 (26,5 %)
Aktive Raucher, n (%)	39 (38,2 %)
Ex-Nikotinabusus, n (%)	16 (36,3 %)

5.2 Operationsverfahren

Von 102 Patienten wurden bei 80 Patienten (78,4%) eine AC(V)B-OP, bei 18 Patienten (17,6%) eine kombinierte Klappen- und AC(V)B-OP und bei 3 Patienten (2,9%) nur eine reine Klappenoperation durchgeführt (bei diesen Patienten bestand, wie im Kapitel 4.1.2 beschrieben, präoperativ auch die Indikation zur myokardialen Koronarrevaskularisation, welche perioperativ nicht mehr aktuell war). Die Operationen mit Hilfe der HLM fanden bei fast einer Hälfte der Patienten (48%) statt. Weitere 51% erhielten eine OPCAB-Operation.

5.3 Prästationäre Medikation mit ASS und/oder Clopidogrel

Aus den 102 Studienpatienten wurden 88 Patienten (86,3%) schon ambulant mit ASS (100 mg/die) behandelt. Davon wurden 80 Patienten (78,4%) nur mit ASS (100 mg/die) therapiert und 8 Patienten (7,8%) erhielten eine Kombinationstherapie von ASS (100 mg/die) und Clopidogrel (75 mg/die). 4 Patienten (3,9%) nahmen präoperativ nur Clopidogrel (75 mg/die) ein. Die restlichen 10 Patienten bekamen weder ASS noch Clopidogrel.

5.4 Allgemeine Laborparameter

A. *Präoperativ*: Die Mittelwerte für das präoperativ erhobene kleine Blutbild sind in der Tabelle 5 dargestellt. 75 Patienten (73,5%) hatten eine normale Erythrozytenzahl, 73 Patienten (71,6%) ein normales Hämoglobin und 83 Patienten (81,4%) einen im Normbereich liegenden Hämatokrit. Nur 12 Patienten (11,8%) hatten bereits präoperativ erniedrigte Erythrozyten und 14 Patienten (13,7%) ein erniedrigtes Hämoglobin. 10 Patienten (9,8%) wiesen unter dem Referenzbereich liegende Thrombozyten auf und nur bei 1 Patienten (1%) lagen die Thrombozyten über der Normgrenze. 91 Patienten (89,2%) hatten eine normale Leukozytenzahl. Wie bereits erwähnt, alle Patienten hatten eine Hyperlipoproteinämie.

B. *Früh-postoperativ (1. postoperativer Tag)*: Die Mittelwerte der Parameter für das früh postoperativ erhobene kleine Blutbild sind ebenfalls in Tabelle 5 dargestellt. Die Studienpatienten befanden sich in der Zeit auf der Intensivstation. 93 von 101 Patienten (92,1%) hatte am 1. postoperativen Tag eine erniedrigte Erythrozytenzahl, 96 Patienten (95%) ein unter Normbereich liegendes Hämoglobin und 87 Patienten (86,1%) einen erniedrigten Hämatokritwert. Die restlichen Patienten hatten im Normbereich liegende Erythrozyten-, Hämoglobin- und Hämatokritwerte. Bei 44 Patienten (43,6%) lagen die Leukozyten über der Normgrenze. Nur bei 2 Patienten (2%) zeigte sich eine leicht erniedrigte Leukozytenzahl. Andere 54,5% der Patienten wiesen im Normbereich liegende Leukozyten auf.

Fast bei der Hälfte der Patienten konnte man einen sehr hohen Thrombozytenverbrauch in der frühen postoperativen Phase feststellen, so dass 50 Patienten (49,5%) eine unter dem Normbereich liegende Thrombozytenzahl aufwiesen. Die andere Hälfte des Studienkollektivs hatte im Referenzbereich liegende Thrombozyten.

C. *Spät-postoperativ (5.-7. postoperativer Tag)*: Am 5. bis 7. postoperativen Tag waren die Erythrozytenzahl, die Hämoglobinkonzentration sowie der Hämatokrit weiter abgefallen (Tabelle 5). 95 Patienten (95%) hatten eine erniedrigte Erythrozytenzahl, 97 Patienten (97%) ein erniedrigtes Hämoglobin und 96 Patienten (96%) einen erniedrigten Hämatokritwert. Bei 14 Patienten (14%) zeigte sich eine erhöhte Leukozytenzahl, 5 Patienten (5%) hatten unter dem Normbereich liegende Leukozytenwerte und bei den restlichen 81 Patienten (81%) waren die Leukozyten im Referenzbereich. Der Mittelwert der Thrombozyten stieg zum 5.-7. Tag um 15%

auf (s. Tabelle 7). Nur 37 Patienten (37%) hatten eine unter der Normgrenze liegende Thrombozytenzahl.

Tab. 5: Erythrozyten-, Thrombozyten und Leukozytenzahlen sowie Hämoglobin und Hämatokrit (n=102; Mittelwerte \pm SD) im Vergleich zu entsprechenden Referenzbereichen

	prä-op	früh post-op	spät post-op	Referenzbereich
Erythrozyten, Tpt/l	4,7 \pm 0,5	3,5 \pm 0,5	3,3 \pm 0,5	4,1 - 5,1
Hämoglobin, mmol/l	8,5 \pm 0,1	6,4 \pm 0,1	6,0 \pm 0,1	7,6 - 9,5
Hämatokrit	0,41 \pm 0,04	0,30 \pm 0,04	0,29 \pm 0,04	0,35 - 0,45
Thrombozyten, Gpt/l	221,1 \pm 62,8	152,5 \pm 45,5	174,7 \pm 67,1	150 - 360
Leukozyten, Gpt/l	7,3 \pm 2,6	10,8 \pm 4,5	8,6 \pm 3,1	4,4 - 11,3

Alle Parameter unterschieden sich zu den 3 Messpunkten signifikant voneinander (ANOVA, $p < 0,05$). Ausnahme: keine Unterschied zwischen früh und spät post-op Hämoglobin.

5.5 Präoperative Laborparameter bei Patienten mit und ohne prästationäre ASS-Therapie

Eine prästationäre ASS-Medikation hatte keinen Einfluss auf die präoperativ gemessenen Werte der Thrombozyten- oder Leukozytenzahlen. Interessanterweise hatten Patienten mit ASS-Vormedikation (n = 88) signifikant höhere Erythrozytenzahlen (4,7 \pm 0,5 vs. 4,2 \pm 0,6 Tpt/l; $p < 0,001$) sowie höhere Hämoglobinkonzentrationen (8,6 \pm 1,2 vs. 7,7 \pm 1,3 g/l; $p < 0,01$) und Hämatokritwerte (0,41 \pm 0,04 vs. 0,37 \pm 0,06; $p < 0,0005$) im Vergleich zu den Patienten ohne ASS (n = 14). Derartige Unterschiede ließen sich postoperativ nicht mehr nachweisen (nicht dargestellt).

Die prästationäre ASS-Medikation hatte aber keinen Einfluss auf die ASS-Response oder Non-Response.

5.6 Komplikationen in der peri- und postoperativen Phase

Bei fast allen Patienten konnte man in der postoperativen Phase Pleuraergüsse und akute Blutungsanämien beobachten. Eine Pneumonie mit Notwendigkeit einer antibiotischen Therapie wurde bei 9 Patienten (8,8 %) diagnostiziert, nur wenige Patienten hatten eine respiratorische Insuffizienz. Einen apikalen Pneumothorax hatten weitere 9 Patienten (8,8%). Ein akuter Myokardinfarkt wurde postoperativ nur in 2 Fällen (2,0 %) festgestellt. Einen postoperativen Bypass-Verschluss hatten 3 Patienten (2,9 %), einer von denen musste sogar rethorakotomiert werden. 2 weitere notfallmäßige Re-Thorakotomien (2,0 %) erfolgten aufgrund einer akuten Perikardtamponade durch Perikarderguss. Ein intraoperatives Kammerflimmern wurde bei 3 Patienten (2,9 %) aufgezeichnet. Reanimationspflichtig waren 6 Patienten (5,9 %). 26 Studienteilnehmer (25,5 %) entwickelten postoperativ ein intermittierendes Vorhofflimmern, 2 (2,9 %) – einen AV-Block II. Grades, Typ Mobitz, andere 2 (2,9 %) – einen passageren AV-Block III. Grades und bei 1 wurden nicht anhaltende ventrikuläre Tachykardien registriert. Eine schwere eitrige Mediastinitis wurde bei einem weiteren Patienten nach ACB-OP über fast 2 Monate stationär behandelt. SIRS diagnostizierte man in 9 Fällen (8,8 %), 2 Patienten verstarben leider dran. Die restlichen 2 Todesfälle traten bei Patienten mit einem Low-Output-Syndrom bei deutlich reduzierter rechtsventrikulärer Pumpfunktion auf. Unmittelbar nach der Operation erlitten 3 Patienten (2,9 %) einen Apoplex, einer war embolischer und 2 ischämischer Genese. Eine dialysepflichtige Patientin mit Diabetes mellitus, Typ II hatte einen postoperativ aufgetretenen Visusverlust links. Die Behandlung von MRSA-Infektion war bei einem Studienpatienten notwendig. 7 Patienten (6,9 %) hatten eine behandlungsbedürftige Harnwegsinfektion. Akute dialysepflichtige Niereninsuffizienz entwickelte 1 Patient. In der frühpostoperativen Phase hatte 8 Patienten (7,8 %) eine Delirsymptomatik. Diskrete Wundheilungsstörungen (entweder prästernal oder an der Venenentnahmestelle) konnte man in 9 Fällen beobachten. 2 Patienten hatten Infektion im Bereich der Einstichstelle eines zentralen Venenkatheter (ZVK).

Interessant, dass alle Patienten bis 2 Ausnahmen, welche schwere lebensbedrohliche Komplikationen erlitten, ASS-Non-Responder waren (entweder auf ASS-Medikation oder auf exogene ASS, gemessen prä- oder postoperativ) (s. Tabelle 6). Die unten dargestellten Daten geben eine Übersicht über die wichtigsten Komplikationen bei ASS-Respondern und Non-Respondern (Tabelle 6).

Tabelle 6: ASS-Non-Response- bzw. Responseverteilung bei Patienten mit wichtigsten Komplikationen in der peri- und postoperativen Phase. **R** (schwarz)-Responder, **NR** (blau) - ASS-Non-Responder auf ASS-Behandlung und **NR** (rot) – ASS-Non-Responder auf exogene ASS

Komplikationen	Prä-op	1. post-op	5.-7. post-op
Re-Thorakotomie bei Perikardtamponade	R	R	NR + NR
Re-Thorakotomie bei Perikardtamponade, Reanimation	R	R	NR + NR
Mechanische und chemische Reanimation	R	NR + NR	NR + NR
Mechanische und chemische Reanimation	NR	NR	NR + NR
Visusverlust	NR + NR	NR + NR	NR + NR
Apoplex, intraoperative Reanimation	R	R	NR + NR
Apoplex	NR + NR	NR + NR	NR
Re-Thorakotomie bei Perikardtamponade	NR	NR + NR	NR + NR
Bypass-Verschluss	NR	NR + NR	NR + NR
Bypass-Verschluss	NR	NR + NR	NR
MI p/o	R	R	NR + NR
MI p/o	R	R	R
SIRS	R	NR + NR	NR + NR
SIRS	R	NR	R
Exitus letalis (SIRS)	R	NR	NR + NR
Exitus letalis (Low-Output-Syndrom)	NR	NR	verstorben
Exitus letalis (SIRS, Low-Output-Syndrom)	NR + NR	R	R
Exitus letalis (Low-Output-Syndrom)	R	R	R

5.7 Häufigkeitsverteilung der Maxima der AA-induzierten Aggregation

Um den Cut-off für die Unterscheidung zwischen Respondern und Non-Respondern auf ASS festzulegen, wurden zunächst die Maxima der präoperativen AA-induzierten Aggregation der Patienten mit präoperativer ASS-Medikation hinsichtlich der Häufigkeitsverteilung analysiert (rote Kurve). Dabei wurden die Aggregationsmaxima in 10 Aggregationsklassen (von 0 bis 9 %, von 10 bis 19 %, von 20 bis 29 % u s.w.) eingeteilt.

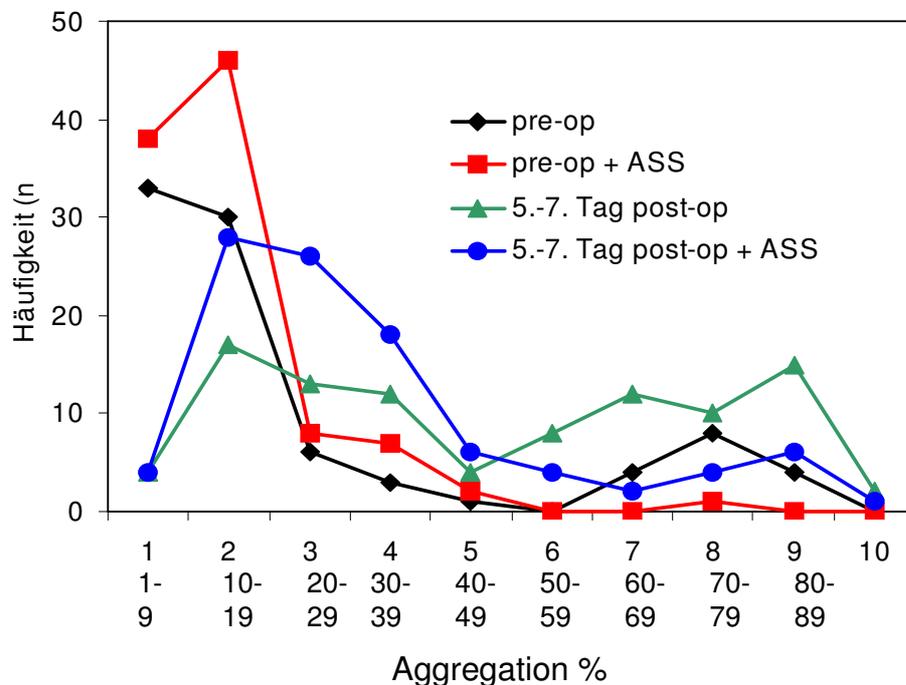


Abbildung 7: Häufigkeitsverteilung der Maxima der AA-induzierten Aggregation mit und ohne Zusatz exogener ASS präoperativ und am, 5.-7. post-op Tag

Die rote Kurve zeigte einen ersten Gipfel im Bereich zwischen 0 und 19 % Aggregation, in dem 63 der 88 betreffenden Patienten lagen. Im Bereich von 20 bis 29 % fällt die Kurve steil ab, um dann zwischen 30 und 59 auf 0 % Aggregation zurückzugehen. Dieser Bereich umfasst 10 Patienten. Daran schließt sich ein zweiter Gipfel mit 16 Patienten zwischen 70 und 89 % an. Ein sehr ähnlicher Kurvenverlauf wurde für die prä-operative AA-induzierte Aggregation mit Zusatz exogener AA beobachtet (schwarze Kurve). Hier fanden sich jedoch ein niedrigeres erstes

Maximum und ein höheres zweites Maximum (Abb. 7). Entsprechend dieser Kurvenverläufe wurde ein Cut-off für die Unterscheidung von Respondern und Non-Respondern auf ASS von < 30 % festgelegt. Eine entsprechende Analyse wurde für die Häufigkeitsverteilung der Maxima der AA-induzierten Aggregation am 5.-7. Tag mit zugesetzter ASS (grüne Kurve) oder mit ASS-Medikation (blaue Kurve) durchgeführt. Hier zeigten sich im Vergleich zu den präoperativen Daten eine Erniedrigung und Rechtsverschiebung des ersten Maximum sowie eine Zunahme des zweiten Maximum (Abb. 7).

5.8 Identifizierung von „ASS-Non-Respondern“

5.8.1 Häufigkeit der ASS-Non-Response

Entsprechend des im Punkt 4.7 festgelegten Cut-off von < 30 % wurden alle Patienten in ASS-Non-Responder oder ASS-Responder eingeteilt. Aufgrund der Patientenbewegung unterscheidet sich die Gesamtzahl der Patienten in der präoperativen Phase im Vergleich mit dem 1.- und 5.-7. postoperativen Tag in mehreren unten dargestellten Tabellen.

Von 88 Patienten, welche präoperativ mit ASS (100 mg/die) behandelt wurden, sind 21 Patienten (23,9%) als Non-Responder identifiziert worden. Am 1. postoperativen Tag stieg die Zahl der Non-Responder auf 49 (55,7%) an. Im weiteren Verlauf (zwischen den 5.- 7. postoperativen Tagen) waren 63 Patienten (64,9%) von den 97, welche mit ASS (100 mg/die) behandelt worden sind, ASS-Non-Responder (Abbildung 8). Auf exogen zugesetzte ASS hatten präoperativ nur 10 Patienten (9,8 %) eine unzureichende Hemmung der AA-induzierten Aggregation gezeigt. Am 1. post-operativen Tag war die Rate der Non-Responder auf exogene ASS auf 52,9 % angestiegen (n = 54). Zwischen den 5. und 7. post-operativen Tag lag die Rate immer noch bei 41,4 % (n = 41) (s. Abbildung 8).

Da bei allen Patienten die Hemmung der Thrombozyten auf exogen ASS getestet wurde, kann eine von der ASS-Medikation unabhängige Aussage über Non-Response erhalten werden.

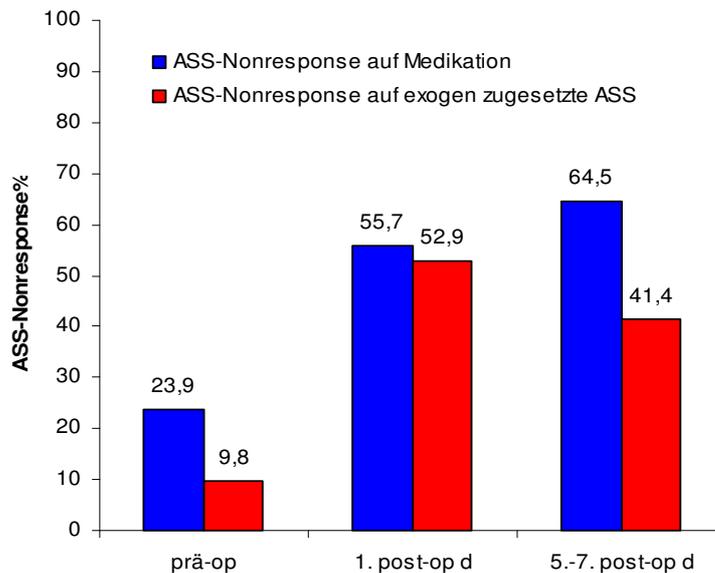


Abbildung 8: Häufigkeit von ASS-Non-Response auf ASS-Medikation (blau) sowie auf exogen zugesetzte ASS (rot)

5.8.2 Fehlende Compliance oder geringe Bioverfügbarkeit

Um die Frage zu beantworten, inwieweit die Non-Response auf ASS-Medikation durch Compliancestörungen oder eine geringe Bioverfügbarkeit von ASS bedingt war, haben wir, wie im Kapitel 4.1.5 beschrieben, PRP mit exogen zugesetzter ASS vorinkubiert und anschließend eine AA-induzierte Aggregation ausgelöst.

Analysiert waren Patienten, welche in den prä- und postoperativen Phasen eine ASS-Therapie bekommen haben. Die gewonnenen Daten zeigten, dass von den 21 Non-Respondern auf ASS-Medikation, identifiziert präoperativ, 16 Patienten (76,2 %), von den 49 Non-Respondern, identifiziert am 1. postoperativen Tag 12 Patienten (24,5 %) und von den 63 Non-Respondern, identifiziert am 5.-7. postoperativen Tag, 29 Patienten (46,0 %) nach exogener Gabe von ASS in die ASS-Response übergegangen sind (s. Abbildung 9).

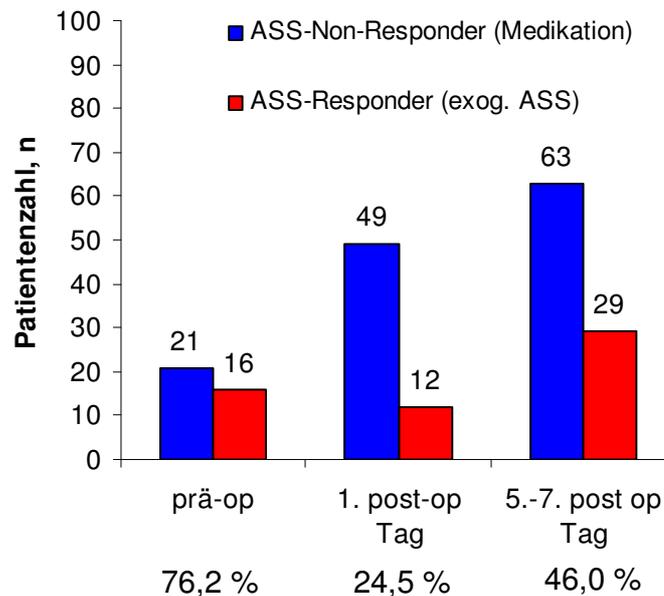


Abbildung 9: Häufigkeit von ASS-Respondern auf exogene ASS unter den Patienten, welche initial als ASS-Non-Responder auf ASS-Medikation indentifiziert worden sind und dann nach Zusatz von exogener ASS in einer AA-induzierten Aggregation eine ausreichende Hemmung der Thrombozytenfunktion aufwiesen

5.9 Wechsel zwischen Non-Response und Response

Die Stabilität der Hemmung der Thrombozytenaggregation durch ASS wurde für den 1.- und 5.-7. postoperativen Tag anhand der Wirkung der exogen zugesetzten ASS analysiert. Hierzu standen Datenpaare von 98 Patienten zur Verfügung. Von den 52 Non-Respondern am 1. postoperativen Tag wurden 26 Patienten auch am 5.-7. postoperativen Tag als Non-Responder klassifiziert. Von 46 Respondern am 1. postoperativen Tag wurden 33 Patienten auch am 5.-7. postoperativen Tag als Responder klassifiziert. Die restlichen 13 Responder am 1. postoperativen Tag wiesen zum 5.-7. postoperativen Tag eine Non-Response auf. Das heisst, ca. 60 % der Patienten zeigten eine „stabile“ und 40 % eine „instabile“ Response oder Non-Response. Dabei war der Wechsel von Non-Response zu Response signifikant häufiger als ein Wechsel von Response zu Non-Response (50,0 % vs 28,3 %; $p = 0,039$; Abb. 10).

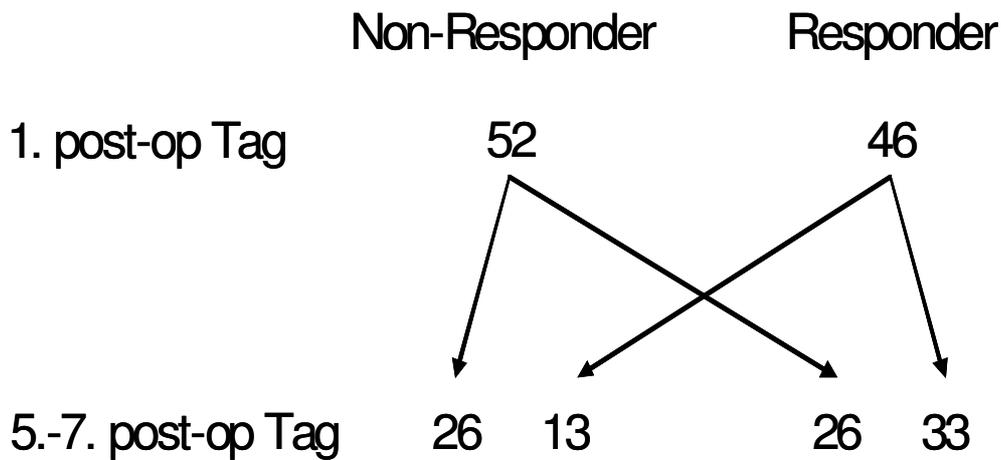


Abb. 10: Wechsel zwischen Respondern und Non-Respondern

Um zu prüfen, inwieweit der Wechsel zwischen Non-Response und Response durch Messungenauigkeiten bedingt war, wurden die in den verschiedenen Gruppen gemessenen Werte der maximalen AA-induzierten Aggregation miteinander verglichen.

Wie Abb. 11 zeigt, waren die Veränderungen, die zu einem Wechsel in der Klassifizierung führten, signifikant (instabile Responder/Non-Responder d.h. Gruppen 5, 6, 7 und 8). Interessanterweise gab es auch bei den Patienten mit „stabiler“ Response/Non-Response signifikante Unterschiede in der maximalen Aggregation zwischen dem 1.- und dem 5.-7. postoperativen Tag: Zunahme um etwa 10 % bei den „stabilen“ Non-Respondern und eine Abnahme um etwa 5% bei den „stabilen“ Respondern (hier Gruppen 1, 2, 3, und 4). Es wurden jedoch keine signifikanten Unterschiede in den Aggregationswerten beobachtet, wenn stabile und instabile Responder oder Non-Responder miteinander verglichen wurden (Gruppen 1, 7 und 3, 5 oberhalb und unterhalb des Cut-off von 30 %; (s. Abb. 11).

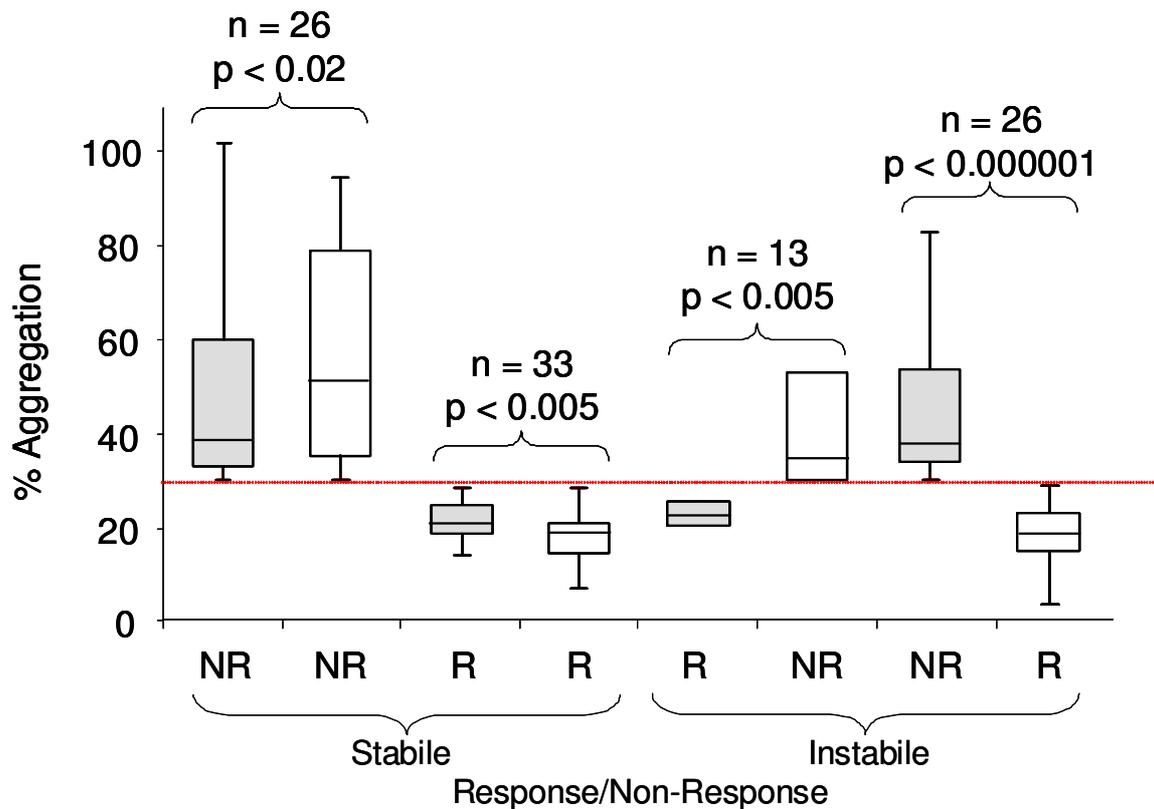


Abbildung 11: Maximale AA-induzierte Aggregation am 1. post-op (grau) und 5.-7. post-op Tag (weiss) bei Patienten mit „stabiler“ und „instabiler“, d.h. wechselnder, ASS-Response und Non-Response (R und NR) entsprechend Abb. 10. Die Box- und Whisker-Plots geben Median, 25. und 75. Perzentile sowie 5. und 95. Perzentile an

5.10 Maximale AA- und ADP-induzierte Aggregation bei ASS-Respondern und Non-Respondern

Um die Frage zu prüfen, inwieweit die Response und Non-Response gegenüber ASS auch die ADP-induzierte Aggregation beeinflusst, wurden die Maxima der AA- und auch ADP-induzierten Aggregation bei Respondern und Non-Respondern verglichen. Responder und Non-Responder mit präoperativer ASS-Behandlung unterschieden sich nicht nur in der AA-induzierten Aggregation, sondern auch - wenn auch in wesentlich geringerem Ausmass - in der durch 3 μM oder 30 μM ADP induzierten Aggregation. Unterschiede in der ADP-induzierten Aggregation wurden auch beobachtet, wenn Responder und Non-Responder auf exogen zugesetzte ASS getestet wurde. In allen Fällen lagen die Maxima bei den Non-Respondern über denen der Responder (Abb. 12 A und B).

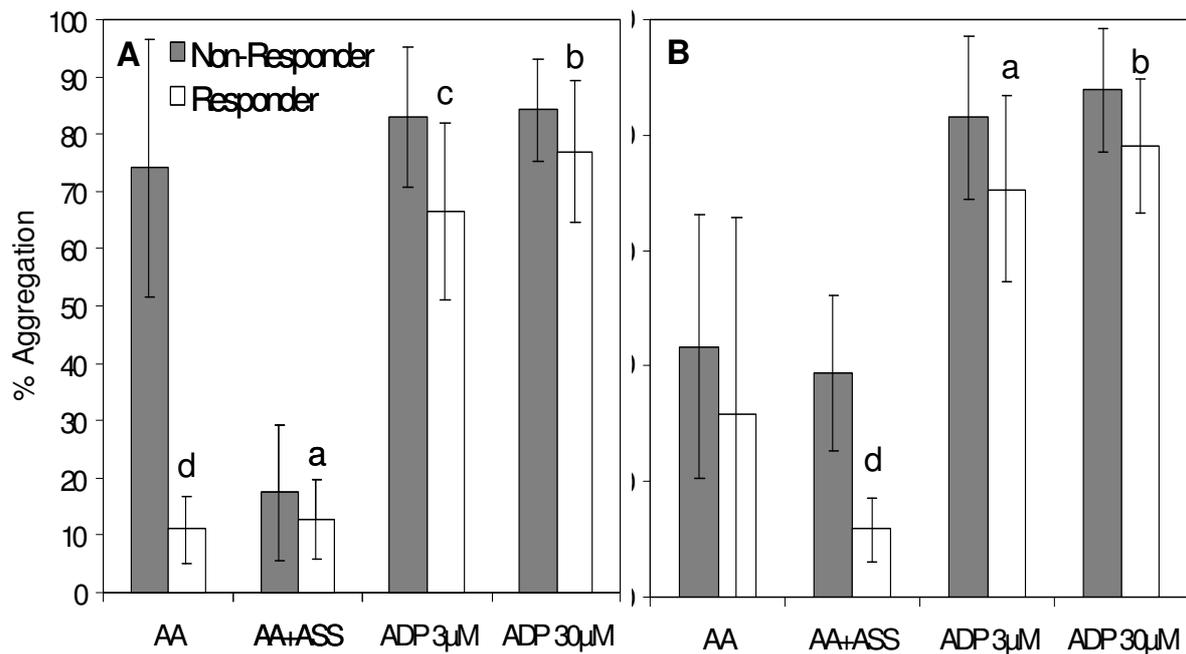


Abbildung 12: Maxima der präoperativen AA- und ADP-induzierten Aggregation bei ASS- Respondern (weiß) und Non-Respondern (grau) mit präoperativer ASS-Behandlung (A: n = 88) sowie Respondern und Non-Respondern auf exogene ASS (B: n = 102). Die Werte sind als Mittelwerte und Standardabweichungen angegeben. Signifikante Unterschiede zwischen Respondern und Non-Respondern: a - $p < 0,05$; b - $p < 0,02$; c - $p < 0,001$; d - $p < 0,000001$

Ein anderes Bild wurde erhalten, wenn die Patienten am 5.-7. postoperativen Tag in Responder und Non-Responder eingeteilt wurden. Die präoperativ gemessenen Maxima der AA- und ADP-induzierten Aggregationen zeigten keine Unterschiede zwischen Respondern und Non-Respondern. Dies traf zu sowohl in Bezug auf die ASS-Behandlung als auch auf exogen zugesetzte ASS (Abb. 13 A und B). Patienten, die am 5.-7. post-op Tag als Non-Responder auf die ASS-Behandlung oder exogen zugesetzte ASS klassifiziert wurden, hatten signifikant höhere Maxima der AA-induzierten Aggregation als Responder, während die ADP-induzierte Aggregationen keine Unterschiede zeigten (Abb. 13 C und D).

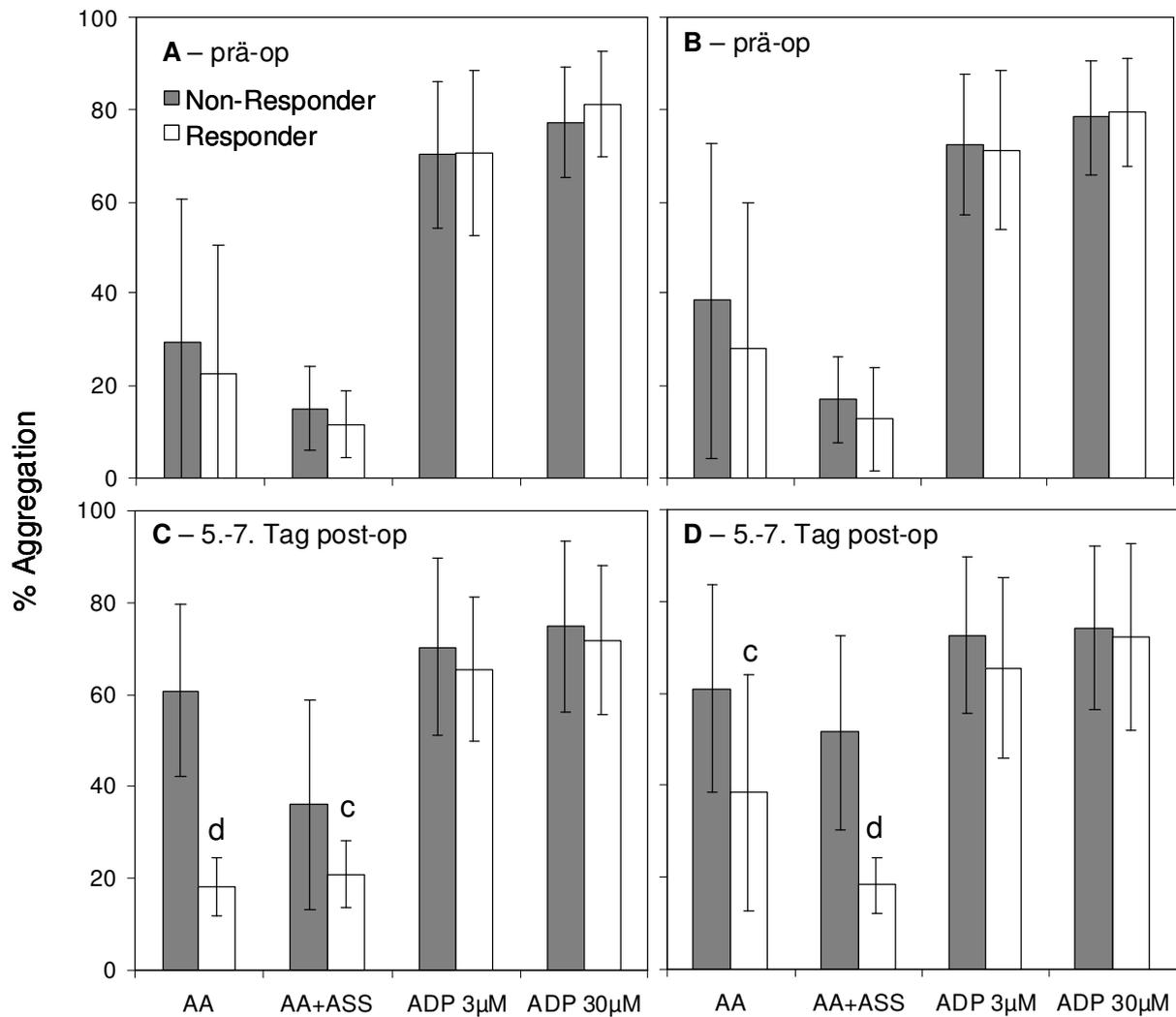


Abbildung 13: Maxima der präoperativ und am 5.-7. postoperativen Tag gemessenen AA- und ADP-induzierten Aggregation bei Einteilung in ASS-Responder (weiß) und Non-Responder (grau) am 5.-7. post-op Tag unter Patienten mit präoperativer und postoperativer ASS-Behandlung (A+C; n = 86) sowie in ASS-Responder und Non-Responder auf exogene ASS (B + D; n = 98. Die Werte sind als Mittelwerte und Standardabweichungen angegeben. Signifikante Unterschiede zwischen Respondern und Non-Respondern: a - $p < 0,05$; b - $p < 0,02$; c - $p < 0,001$; d - $p < 0,000001$

Die erhaltenen Daten zeigen, dass ASS-Non-Responder in der präoperativen Phase nicht nur - wie zu erwarten - eine deutlich stärkere AA-induzierte Aggregation, sondern auch stärkere ADP-induzierte Aggregation sowohl mit 3 µM als auch mit 30 µM ADP hatten. Dieser Einfluss der ASS-Response/Non-Response ist jedoch am 5.-7. post-op Tag nicht mehr nachweisbar.

5.11 Einflüsse der HLM auf ASS-Response/Non-Response

Herzchirurgische Eingriffe mit der HLM haben einen negativen Einfluss auf den gesamten Körper mit postoperativen Störungen fast aller Vitalfunktionen (Ng et al 2002, Chertow et al 1997, Blauth et al 1992 und Ascione et al 2002). Außerdem führen Sie zu einer systemischen Entzündungsreaktion, einem erhöhten thrombozytären Umsatz und zur Beeinflussung der Thrombozytenfunktion (Lahat et al 1992; Strüber et al 1999; Schulze et al 2000; Casati et al 2001). Diese werden als mögliche Ursachen für die ASS-Non-Response diskutiert. Deswegen wurde geprüft, ob der Zusammenhang zwischen der Operation mit HLM und ASS-Non-Response/Response festgestellt werden könnte.

Etwa die Hälfte der Patienten wurde mit Zuhilfenahme der HLM operiert. Bezüglich einer ASS-Behandlung gab es präoperativ und zum 5.-7. postoperativen Tagen keine Unterschiede.

Am 1. postoperativen Tag erhielten die HLM-Patienten jedoch signifikant weniger häufig ASS (s. Tab. 7). Tabelle 7 gibt eine Übersicht von der Anzahl der Patienten, welche mit oder ohne HLM operiert worden sind und eine ASS-Therapie in der postoperativen Phase bekommen haben oder nicht. Bezüglich einer Behandlung mit Clopidogrel gab es keine Unterschiede (nicht dargestellt).

Tabelle 7: Anzahl der Patienten, welche sich einer Koronarrevaskularisation ggf. einer Klappenoperation mit oder ohne HLM unterzogen haben und in der postoperativen Phase mit oder ohne ASS-Therapie geführt worden sind

Zeit	Patienten ohne HLM (n=53)		Patienten mit HLM (n=49)	
	ASS +	ASS -	ASS +	ASS -
Prä-op	n = 45	n = 8	n = 43	n = 6
1. post op Tag	n = 36	n = 16	n = 22*	n = 27*
5.-7. post op Tag	n = 51	n = 0	n = 46	n = 3

**signifikante Differenz zwischen Patienten mit und ohne HLM: $p = 0.016$*

Wie Abb. 14 zeigt, waren die Operationen an der HLM im Vergleich zu denen ohne HLM mit einem stärkeren Abfall der Thrombozytenzahlen verbunden.

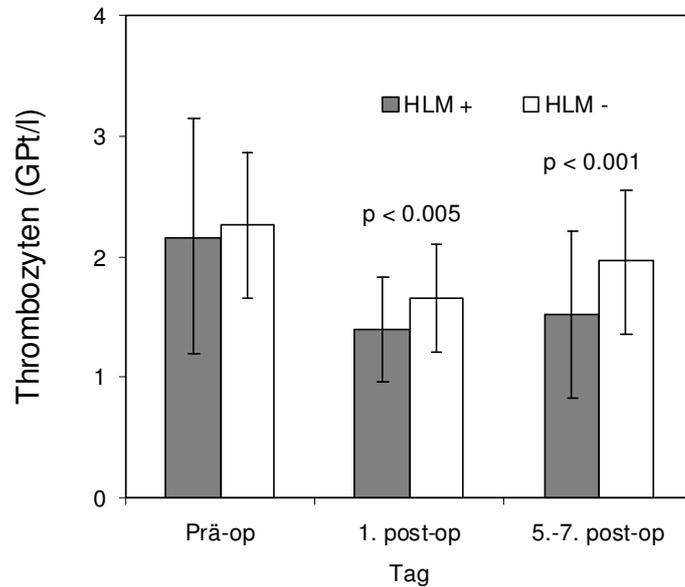


Abbildung 14: Verlauf der Thrombozytenzahlen bei Patienten mit und ohne HLM, gemessen präoperativ, am 1. postoperativen Tag und am 5.-7. postoperativen Tag

In Bezug auf die Häufigkeit von Non-Respondern auf die ASS- Behandlung oder auf exogen zugestzte ASS gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne HLM (Tabellen 8 und 9).

Tabelle 8: Häufigkeit von ASS-Non-Respondern auf die ASS-Behandlung bei Patienten mit ASS-Einnahme und entweder mit oder ohne HLM

	Zeitpunkt		
	prä-op	1. post-op Tag	5.-7. post-op Tag
Alle	23,9 % (21 [#] von 88 ⁺)	55,7 % (49 [#] von 88 ⁺)	64,9 % (63 [#] von 97 ⁺)
HLM -	24,4 % (11 von 45)	57,8 % (26 von 45)	72,5 % (37 von 51)
HLM +	23,2 % (10 von 43)	53,5 % (23 von 43)	52,2 % (26 von 46)

[#]Non-Responder, ⁺alle in diese Auswertung eingeschlossene Patienten mit ASS-Behandlung

Tabelle 9: Häufigkeit von ASS- Non-Respondern auf exogen zugesetzte ASS bei Patienten mit und ohne HLM

	Zeitpunkt		
	prä-op	1. post-op Tag	5.-7. post-op Tag
Alle	9,8 % (10 [#] von 102 ⁺)	53,5 % (54 [#] von 101 ⁺)	41,4 % (41 [#] von 99 ⁺)
HLM -	11,5 % (6 von 52)	51,9 % (27 von 52)	45,1 % (23 von 51)
HLM +	8,2 % (4 von 49)	45,8 % (27 von 49)	37,5 % (18 von 48)

[#]Non-Responder, ⁺alle in diese Auswertung eingeschlossene Patienten

Der Einfluss der HLM auf die AA-induzierte Thrombozytenaggregation bei den in der Tabelle 8 aufgeführten Patienten mit ASS-Behandlung ist in Abb. 15 dargestellt. In der präoperativen Phase und am 1. postoperativen Tag gab es keine Unterschiede zwischen den Patienten mit und ohne HLM. Am 5.-7. postoperativen Tag hatten Patienten mit HLM jedoch eine signifikant niedrigere maximale Aggregation als Patienten ohne HLM (Abb. 15). Bezüglich der ADP-induzierten Aggregation (3 und 30 μ M) gab es keine Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne HLM (nicht dargestellt).

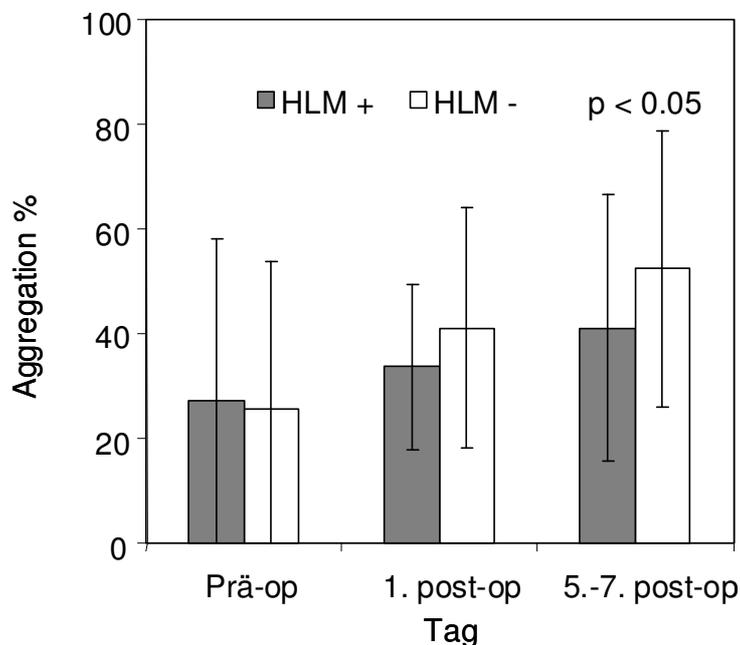


Abbildung 15: Maximale AA-induzierte Aggregation bei Patienten mit ASS-Behandlung, welche mit oder ohne Zuhilfenahme der HLM operiert worden sind

5.12 Einfluss einer Clopidogrel-Behandlung auf ASS-Response/Non-Response

Neben einer ASS-Monotherapie für die Vorbeugung thromboembolischer Komplikationen bei Patienten mit Atherosklerose, besteht eine weitere Option im Sinne einer Kombinationstherapie mit Clopidogrel. Wir wollten prüfen, ob die Kombinationstherapie (ASS und Clopidogrel) die ASS-Response/Non-Response beeinflusst. Außerdem war es interessant, welchen Einfluss dies auf die Maxima der AA-induzierten Aggregation hat.

Vor stationärer Aufnahme hatten 12 Patienten eine Medikation mit Clopidogrel, in der postoperativen Phase wurden am 1. postoperativen Tag 8 und am 5.-7. postoperativen Tag 15 Patienten mit Clopidogrel behandelt. Um zu prüfen, inwieweit Clopidogrel die ASS-Response/Non-Response beeinflusst, wurden zunächst die AA- und ADP-induzierte Aggregationen bei Patienten mit und ohne Clopidogrel miteinander verglichen. Wie Abb. 16 zeigt, ließen sich signifikante Clopidogrel-Effekte auf die ADP-induzierte Aggregation (mit 3 und 30 μ M) sowohl präoperativ als auch am 5.-7. postoperativen Tag nachweisen. Dabei war die Hemmung der ADP-induzierten Aggregation am 5.-7. postoperativen Tag stärker ausgeprägt als präoperativ, was zum Teil auf ein Absetzen der Clopidogreltherapie in der prästationären Phase zurückgeführt werden könnte. Zu keinen der Zeitpunkte waren signifikante Unterschiede in der AA-induzierten Aggregation zwischen Patienten mit und ohne Clopidogrel nachweisbar (Abb. 16 und 17).

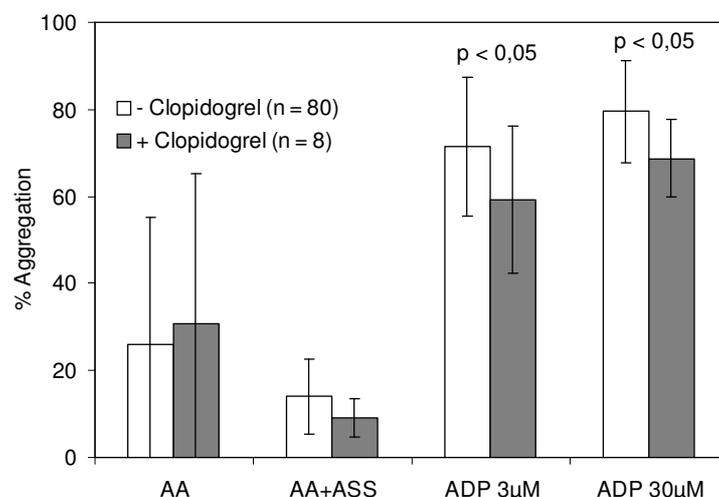


Abbildung 16: Präoperative AA- und ADP-induzierte Aggregation bei Patienten mit ASS- Behandlung sowie mit und ohne Clopidogrel

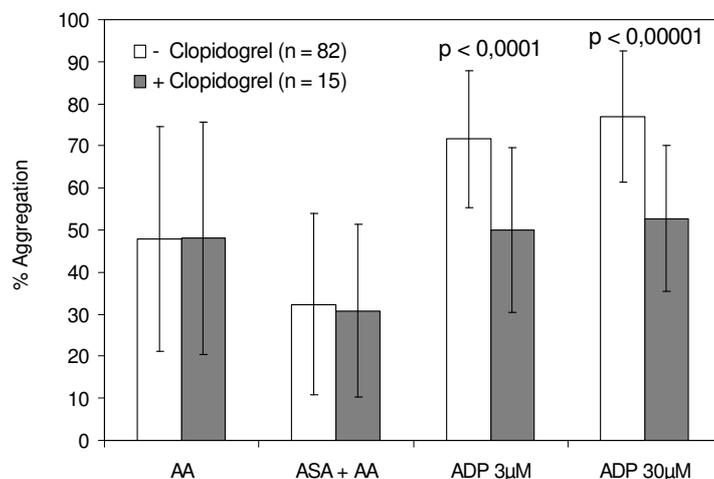


Abbildung 17: AA- und ADP-induzierte Aggregation am 5.-7. post op Tag bei Patienten mit ASS- Behandlung sowie mit und ohne Clopidogrel

Auch bei der Prüfung, inwieweit Clopidogrel die Anzahl der Non-Responder auf die ASS-Behandlung oder auf exogen zugesetzte ASS beeinflusst, wurden keine signifikanten Effekte beobachtet. Auffällig war jedoch, dass bei der Testung auf exogene ASS in der Gruppe mit Clopidogrel keine Non-Responder gefunden wurden (Tab. 10 und 11).

Tabelle 10: Anzahl der ASS-Non-Responder bei Patienten mit ASS- Behandlung sowie mit und ohne Clopidogrel

	Zeitpunkt	
	prä-op	5.-7. post-op Tag
Alle	23,4 % (21 [#] von 88 ⁺)	64,9 % (63 [#] von 97 ⁺)
Clopidogrel -	22,5 % (18 von 80)	64,6 % (53 von 82)
Clopidogrel +	37,5 % (3 von 8)	67,7 % (10 von 15)

[#]Non-Responder; ⁺alle in diese Auswertung eingeschlossene Patienten mit ASS-Behandlung

Tabelle 11: Anzahl der ASS-Non-Responder auf exogene ASS bei allen Patienten mit und ohne Clopidogrel

	Zeitpunkt	
	prä-op	5.-7. post-op Tag
Alle	9,8 % (10 [#] von 102 ⁺)	41,4 % (41 [#] von 99 ⁺)
Clopidogrel -	11,1 % (10 von 90)	40,5 % (34 von 84)
Clopidogrel +	0 % (0 von 12)	46,7 % (7 von 15)

[#]Non-Responder, ⁺alle in diese Auswertung eingeschlossene Patienten

5.13 Einfluss einer Behandlung mit Statinen auf ASS-Response/Non-Response

Es wurde bereits mehrfach berichtet, dass unter einer Therapie mit Statinen (wie Atrovastatin u.a.) häufiger Clopidogrel-Non-Responder gefunden wurden als in entsprechenden Kontrollgruppen (Neubauer et al. 2003, Lau et al. 2003, Tafreshi et al. 2006). Wir wollten prüfen, ob Statine in irgendeiner Form auch die ASS-Non-Response beeinflussen (vermutlich durch einen anderen Cytochrom-P450 unabhängigen Metabolisierungsweg).

Gemessen an den zur Verfügung stehenden Plasmaspiegeln des Gesamtcholesterols der Studienpatienten ($4,5 \pm 1,2$ mmol/l), zeigte sich ein medikamentös gut eingestellter Cholesterolverwert.

Unsere Ergebnisse haben gezeigt, dass die Behandlung mit Statinen keinen signifikanten Einfluss auf die Maxima der AA- oder ADP-induzierten Thrombozytenaggregation hatte.

Auch die Klassifizierung der Patienten mit ASS-Behandlung in Responder und Non-Responder oder in Response oder Non-Response auf exogen zugesetzte ASS wurde durch Statine nicht beeinflusst (Tab. 12 und 13). Zwischen den Plasmacholesterolspiegeln und der Häufigkeit von Respondern und Non-Respondern sowie den Maxima der AA- und ADP-induzierten Aggregationen gab es keine signifikanten Beziehungen (nicht dargestellt).

Tabelle 12: Anzahl der ASS-Non-Responder bei Patienten mit ASS- Behandlung sowie mit und ohne Statinen

	Zeitpunkt	
	prä-op	5.-7. post-op Tag
Alle	23,9 % (21 [#] von 88 ⁺)	64,9 % (63 [#] von 97 ⁺)
Statine -	33,3 % (3 von 9)	58,3 % (7 von 12)
Statine +	22,8 % (18 von 79)	65,9 % (56 von 85)

[#]Non-Responder, ⁺alle in diese Auswertung eingeschlossene Patienten mit ASS-Behandlung

Tabelle 13: Anzahl der ASS-Non-Responder auf exogen zugesetzte ASS bei Patienten mit und ohne Statinen

	Zeitpunkt	
	prä-op	5.-7. post-op Tag
Alle	9,8 % (10 [#] von 102)	41,4 % (41 [#] von 99 ⁺)
Statine -	7,1 % (1 von 14)	33,3 % (4 von 12)
Statine +	10,2 % (9 von 88)	42,5 % (37 von 87)

[#]Non-Responder, ⁺alle in diese Auswertung eingeschlossene Patienten

5.14 Einfluss eines bekannten Diabetes mellitus Typ II auf ASS-Response/Non-Response

In der Literatur wird berichtet, dass Patienten mit Diabetes mellitus, Typ II eine große Zahl von ASS-Non-Response aufweisen. Es wird vermutet, dass eine erhöhte TxA₂-Synthese und Plättchendegranulation sowie Vorhandensein einer großen Zahl von „jungen“ Thrombozyten im Blut oder Thrombozytenfunktionsstörungen für die Entstehung der ASS-Non-Response verantwortlich sind (Davi et al. 1996, Cerbone et al. 2008). Wir gingen dieser Frage nach, um zu prüfen, welchen Einfluss Diabetes mellitus, Typ II auf ASS-Response/Non-Response in unserem Patientenkollektiv hatte.

Von den 102 Patienten war bei 43 Patienten ein Diabetes mellitus Typ II in der Anamnese aufgeführt. Patienten mit Diabetes und ASS-Behandlung unterschieden sich nicht signifikant in den Maxima der AA- und ADP-induzierten Aggregationen zu den verschiedenen Zeitpunkten (nicht dargestellt). Die Tabellen 14 und 15 listen die Verteilung der Responder und Non-

Responder auf die ASS-Behandlung und exogen zugesetzte ASS auf. Auch hier wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Patienten mit und ohne Diabetes mellitus gefunden.

Tabelle 14: Anzahl der ASS-Non-Responder bei Patienten mit ASS- Behandlung sowie mit und ohne Diabetes mellitus

	Zeitpunkt	
	prä-op	5.-7. post-op Tag
Alle	23,9 % (21 [#] von 88 ⁺)	64,9 % (63 [#] von 97 ⁺)
Diabetes -	25,0 % (14 von 56)	61,4 % (35 von 57)
Diabetes +	21,9 % (7 von 32)	70,0 % (28 von 40)

[#]Non-Responder, ⁺alle in diese Auswertung eingeschlossene Patienten mit ASS-Behandlung

Tabelle 15: Anzahl der ASS-Non-Responder auf exogen zugesetzte ASS bei Patienten mit und ohne Diabetes mellitus

	Zeitpunkt	
	prä-op	5.-7. post-op Tag
Alle	9,8 % (10 [#] von 102 ⁺)	41,4 % (41 [#] von 99 ⁺)
Diabetes -	10,2 % (6 von 59)	37,3 % (22 von 59)
Diabetes +	9,3 % (4 von 43)	47,5 % (19 von 40)

[#]Non-Responder, ⁺alle in diese Auswertung eingeschlossene Patienten

5.15 Einfluss von Opioiden auf die ASS-Response/Non-Response

Es ist bekannt, dass einige pharmakokinetische Mechanismen der Entstehung von ASS-Nonreponse zugrunde liegen. So wird die Bioverfügbarkeit von ASS durch Arzneimittelwechselwirkungen, z. B. nach Gabe von Opiaten im Rahmen der Akut-Therapie des Myokardinfarktes, deutlich verringert, da die enterale Resorption von ASS infolge verzögerter Magenpassage erheblich beeinträchtigt sein kann. Fast alle unsere Patienten wurden im Rahmen der postoperativen Schmerztherapie mit Opioiden behandelt. Deswegen war es für uns interessant, inwieweit diese die ASS-Non-Response/ASS-Response beeinflusst.

In die Gruppe „+“ Opioid wurden solche Patienten eingeteilt, bei denen die Opioidwirkung zum Meszeitpunkt anhand der HWZ (Piritramid 4-6 h, Pethidin 2-3 h, Sufentanil 30-40 min.) noch zu erwarten war. Alle andere Patienten gehörten in die Gruppe „-“ Opioid (s. Tab. 16, 17).

Tabelle 16: Häufigkeit von ASS-Non-Respondern auf die ASS-Behandlung bei Patienten mit ASS-Einnahme und mit oder ohne Opioid-Behandlung oder zu erwartender Opioidwirkung

	Zeitpunkt		
	prä-op	1. post-op Tag	5.-7. post-op Tag
Alle	23,9 % (21 [#] von 88 ⁺)	55,7 % (49 [#] von 88 ⁺)	64,9 % (63 [#] von 97 ⁺)
Opioide	25 % (16 von 64)	53,1 % (34 von 64)	66,7 % (2 von 3)
-			
Opioide	20,8 % (5 von 24)	62,5 % (15 von 24)	58,5 % (55 von 94)
+			

[#]Non-Responder, ⁺alle in diese Auswertung eingeschlossene Patienten mit ASS-Behandlung

Da eins der Ausschlusskriterien ambulante Opioidtherapie war, bekam kein Patient in der präoperativen Phase Opioide. Am 1. postoperativen Tag hatten 73 Patienten eine Opioidbehandlung, davon 3 Patienten erhielten Sufentanil/Fentanyl, 5 Patienten – Piritramid mit Sufentanil/Fentanyl, 2 – Pethidin und Piritramid und 63 – nur Piritramid. Am 5.-7. postoperativen Tag wurden nur 5 Patienten mit Opioiden behandelt, 3 Patienten hatten Piritramid und 2 eine Kombination von Piritramid und Sufentanil/Fentanyl.

Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in den Maxima der AA- bzw. ADP-induzierten Aggregation bei Patienten mit und ohne Opioide (nicht dargestellt). Auch hatte die Opioidtherapie keinen signifikanten Einfluss auf die ASS-Response/Non-Response.

5.16 NSAID (Metamizol) und ASS-Non-Response bei gesunden

Probanden

Ergänzend zu den erhaltenen Patientendaten wurden entsprechende Messungen mit PRP von 5 gesunden Probanden durchgeführt, die hierfür ASS über einen Zeitraum von 3 Tagen mit identischer Dosis (100 mg/die) und anschließend Metamizol (3 g/die) in Kombination mit ASS (100 mg/die) peroral innerhalb von weiteren 2 Tagen einnahmen. Hier konnte auch kein Zusammenhang zwischen den NSAID (Metamizol) und ASS-Non-Response gesehen werden.

6 Diskussion

6.1. Methodik für die Bestimmung der Thrombozytenfunktion und der ASS-Non-Response

Bis vor einigen Jahren wurde die Thrombozytenfunktion durch die so genannte Blutungszeit bestimmt. In den letzten Jahren verlor dieses Verfahren immer mehr an Bedeutung. In letzter Zeit existieren zahlreiche Tests für die Bestimmung der Thrombozytenfunktion und ASS-Non-Response (wie z.B. *PFA-100-Analyse*, bei der der Gerinnungsprozess außerhalb des Körpers nachgeahmt wird, *Durchflusszytometrie*, welche verschiedene Eigenschaften der Zellen mit Hilfe eines Laserlichtes bestimmt, die *enzyme-immunoassay (EIA)* oder (*ELISA*) zur Bestimmung der TxB₂-Synthese (ein inaktiver TxA₂-Metabolit), *HPLC (high performance liquid chromatography)* zur Bestimmung der ASS-Metabolite (wie Salicylsäure), verschiedene *Point-of-Care (POC)-Tests*, wie z.B. „*Rapid Platelet Function Assay*“ (RPFA bzw. VerifyNow® Aspirin, Accumetrics, San Diego, CA, USA), eine automatisierte turbidimetrische Vollblutmethode, bei der die Thrombozyten durch Propylgallat oder Arachidonsäure aktiviert werden und an mit Fibrinogen beschichtete Partikel binden, die in der Folge agglutinieren (Smith et al. 1999) oder sogar Kombination der *Thrombelastographie (TEG)* mit anderen Thrombozytenfunktionstests und viele andere Methoden).

Die *Thrombozytenaggregometrie* stellt unter den Thrombozytenfunktionstests immer noch den „Goldstandard“ dar (Harrison et al. 2007). Durch den Einsatz unterschiedlicher Thrombozytenagonisten (AA, ADP, Kollagen u s.w.) ist es möglich, zahlreiche Informationen zu verschiedenen Aspekten der Plättchenfunktion zu erhalten. Dadurch werden nicht nur die Störungen der Thrombozytenfunktion diagnostiziert (Moffat et al. 2005), auch Studien, die die Wirksamkeit antithrombozytärer Substanzen untersuchen, arbeiten zu einem hohen Prozentsatz mit dieser Methode. Wie jede Methode hat sie auch einige Nachteile aufzuweisen. Sie erfordert ein relativ großes Probenvolumen, eine unmittelbare Bearbeitung der Proben, eine zeitaufwendige Probenpräparation sowie einen geschulten Untersucher. Aus diesem Grund ist diese Methode nur in spezialisierten Laboratorien möglich. Ein weiterer Kritikpunkt ist der initiale Zentrifugationsschritt zur Gewinnung des plättchenreichen Plasmas. Bestimmte Plättchenfraktionen könnten verloren gehen oder Thrombozyten könnten vorzeitig aktiviert werden. Darüber hinaus befinden sich die Thrombozyten während der Aggregationsreaktion nicht

in ihrer physiologischen Umgebung, es fehlt z.B. die Beeinflussung durch Erythrozyten und Leukozyten. Auch der Einfluss der Gefäßwand oder die hohen Scherkräfte, die im Bereich einer atherosklerotisch veränderten Gefäßwand vorherrschen, werden in der optischen Aggregometrie nicht berücksichtigt.

Um die Frage zu beantworten, welche Methode ist die beste zur Bestimmung einer ASS-Non-Response, muss man einen Blick in die aktuelle Literatur werfen. Eine Metaanalyse von Krasopoulos et al. zeigt, dass die optische Aggregometrie grundsätzlich die wenigsten Patienten als „ASS-resistent“ einstuft, und dass die Ergebnisse der Studien, die mit dieser Methode arbeiten, die geringste Heterogenität zeigen und das, obwohl verschiedene Agonisten verwendet wurden (A. Bierend 2008, Metaanalyse von Krasopoulos 2008). Am stärksten wichen die Ergebnisse voneinander ab, die mit der PFA-100-Methode erzielt wurden. Hinzu kommt, dass die Häufigkeit der ASS-Non-Response mit dieser Methode deutlich höher im Vergleich mit anderen Nachweisverfahren ist (Krasopoulos et al. 2008). Mehrere Autoren halten die PFA-100-Methode – im Gegensatz zur optischen Aggregometrie – für die Beurteilung der ASS-Wirkung bei stabilen KHK-Patienten für nicht aussagekräftig (Eikelboom and Hankey 2003, Gum et al. 2003 u.a.). Trotzdem existieren Studien, welche für die meisten oben aufgeführten Methoden einen Zusammenhang zwischen im Labor ermittelter ASS-Non-Response und den kardiovaskulären Ereignissen zeigen (Harrison et al. 2007, Gurbel et al. 2007 a). Andere o.g. alternative Methoden wie (VerifyNow® Aspirin mit AA als Agonist, Impact® „Cone and Plate(let) Analyzer“, TEG® Platelet Mapping™) sind relativ neu oder kostenintensiv und deswegen nicht weit verbreitet. Die Metaanalyse von Krasopoulos et al. zeigte für die ASS-Non-Responder, welche mittels optischer Aggregometrie nach Born in diese Klassifikationsgruppe eingeteilt wurden, das höchste Risiko für wiederkehrende kardiovaskuläre Ereignisse (Krasopoulos et al. 2008). Die erhaltenen Daten beweisen, dass die optische Thrombozytenaggregometrie nach Born nach wie vor der „Goldstandard“ für die Bestimmung der ASS-Non-Response ist.

Ein weiteres Problem liegt darin, dass viele Studien, aufgrund einer fehlenden Definition der ASS-Non-Response und fehlender Einheitsmethode für ihre Bestimmung, überhaupt nicht miteinander vergleichbar sind. Außerdem gibt es keine Methode, welche in der Lage ist, jede Komponente der komplexen Thrombozytenfunktion zu erfassen.

6.2 Definition von ASS-Non-Response und ihre Häufigkeit

Aspirin nimmt den ersten Platz unter allen Thrombozytenaggregationshemmern in der primären und sekundären Prävention atherothrombotischer Ereignisse, bei Patienten mit einem hohen kardiovaskulären Risiko ein. Ihre vorteilhaften Effekte wurden bereits in mehrfachen klinischen Studien zweifelsfrei dokumentiert. Dennoch wurde die Effektivität der ASS-Therapie in Frage gestellt, nachdem zahlreiche Publikationen erschienen, welche eine erwartete Hemmung der Thrombozytenaggregation durch ASS mittels verschiedener Tests nicht mehr nachweisen konnten. Dadurch entstand das Konzept der „Aspirin-Resistenz“, im englischen Sprachraum wird eine bessere Formulierung - „Aspirin non-responsiveness“ - verwendet, da es sich bei der ASS-Resistenz eher um eine klinische Beobachtung (oder Vermutung) und nicht um ein pharmakologisch definiertes Phänomen handelt. Resistenz im pharmakologischen Sinne ist z.B. für Antibiotika oder Zytostatika bekannt. Also, ASS-Resistenz ist ein Phänomen, welches auf keiner breit akzeptierten Definition beruht. Es wurden verschiedene Definitionen vorgeschlagen: Klinische ASS-Resistenz (Vorkommen atherothrombotischer Ereignisse trotz Behandlung), biochemische ASS-Resistenz (normale Laborbefunde trotz Behandlung (kein messbarer biochemischer Effekt)), pharmakologische ASS-Resistenz (persistierende Produktion von TxA₂ und/oder Metabolite), funktionelle ASS-Resistenz (persistierende Thrombozytenaggregation trotz Behandlung), pharmakokinetische ASS-Resistenz (reversibel hinsichtlich der *In-vitro*-Zugabe von ASS), pseudo-ASS-Resistenz (persistierende Aggregation trotz inhibierter TxA₂-Synthese) (Wong et al. 2004). Aus therapeutischer Sicht ist die relevanteste Definition diejenige, welche einer klinischen Fragestellung entspricht, nämlich dem Unvermögen von Aspirin, gegen ischämische Ereignisse zu beschützen. Tatsächlich erfährt trotz langfristiger ASS-Behandlung durchschnittlich einer von acht Patienten ein ischämisches Ereignis (Svenstrup Poulsen et al. 2005). Es stellt sich die Frage, ob diese Ereignisse ganz oder nur teilweise das Resultat eines fehlenden oder verminderten Effekts von Aspirin ist. Deshalb sollte die Definition der ASS-Non-Response auf reproduzierbaren biochemischen und/oder funktionellen *In-vitro*-Tests beruhen, und diese sollten mit der Vorbeugung klinischer ischämischer Ereignisse relatiert und verwendbar gemacht werden (Svenstrup Poulsen et al. 2005). Wong et al. haben vorgeschlagen, den Begriff der ASS-Resistenz einzuteilen in „Versagen des pharmakologischen Effekts von Aspirin“ und „Versagen des Aspirins, die Thrombozytenaggregation zu verhindern“ (Wong et al. 2004). Ein Grundsatzpapier der „International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH) Working Group on Aspirin Resistance“ (Michelson et al. 2005, Pulcinelli und Riondino 2006) hat

vorgeschlagen, in erster Linie die Klassifikation nach Weber et al. (2002) zu berücksichtigen, um zwischen Thromboxan-abhängiger und Thromboxan-unabhängiger „ASS-Resistenz“ bzw. „Pseudoresistenz“ unterscheiden zu können. Das heißt, die optische Aggregometrie ist die Methode der Wahl. Weiterhin sollen neben Kollagen weitere Thrombozytenagonisten (wie z.B. AA und ADP) eingesetzt werden. Darüber hinaus wird die Bestimmung von TxB2 (ein inaktiver Metabolit des TxA2) in den Aggregationsüberständen empfohlen (Ausschluss von Non-Compliance) sowie der Einsatz von COX-1- und COX-2-Inhibitoren in vitro. (Pulcinelli und Riondino 2006). Obwohl die Klassifikation von Weber et al. keine breite praktische Anwendung bekommen hat, wird sie sehr oft als Grundlage für weitere mehr oder weniger komplexe Klassifikationen in verschiedenen Studien benutzt (Weber et al., 2001):

- **Typ I Resistenz (pharmakokinetischer Typ)** liegt vor, wenn die Einnahme von 100 mg ASS/die (mindestens 5 Tage) weder zur Hemmung der thrombozytären TXA₂-Synthese, noch zu einer Hemmung der Kollagen-induzierten Aggregation führt, 100 µM ASS in vitro aber sowohl die TXA₂-Synthese, als auch die Aggregation vollständig hemmt.
- **Bei Typ II Resistenz (pharmakodynamischer Typ)** führt weder die orale Gabe von 100 mg ASS/die noch 100 µM ASS in vitro zu einer Hemmung der thrombozytären Thromboxan-Synthese bzw. der kollageninduzierten Plättchenaggregation.
- **Typ III Resistenz („Pseudo-Resistenz“)** liegt vor, wenn die Einnahme von 100 mg ASS/die (mind. 5 Tage) die thrombozytäre Thromboxan-Synthese adäquat hemmt, die Aggregation aber auch nach zusätzlicher in vitro Gabe von 100 µM ASS nahezu unbeeinflusst bleibt.

Also, eine präzise Definition, welche auf einheitlichen Merkmalen, gesicherten diagnostischen Kriterien oder Normalwerten basiert, gibt es nicht. Dadurch entstehen zahlreiche Studien, welche unterschiedliche Untersuchungsmethoden verwenden, die miteinander nicht vergleichbar sind (Howard 2002). Zudem werden diese Untersuchungen an unterschiedlichen Patientenkollektiven durchgeführt. Aus diesem Grund variiert in fast allen Studien sehr stark die Häufigkeit der ASS-Non-Response. Wie einige Autoren zeigten, wird die Rate der ASS-Non-Response bei KHK-Patienten, abhängig von der Untersuchungsmethode, mit 5 bis 45 % (McKee et al.2002) und bei Apoplexpatienten mit 5 bis 65 % beziffert (Mason et al.2005).

In der vorliegenden Arbeit haben wir ASS-Non-Response untersucht. Sie wurde in 2 Klassen eingeteilt: *ASS-Non-Response auf ASS-Medikation* (wenn Einnahme von 100 mg ASS/die nicht

zu einer Hemmung der AA-induzierten Aggregation führt) und *ASS-Non-Response auf exogen zugesetzte ASS* oder eine „echte“ Non-Response (wenn 100 µM ASS *in vitro* nicht zu einer Hemmung der AA-induzierten Plättchenaggregation führt). Diese „echten“ ASS-Non-Responder zeigten *in vitro* nach Vorinkubation des PRP mit exogener ASS eine stabil bleibende unzureichende Hemmung der Thrombozytenfunktion.

Die Häufigkeit der ASS-Non-Response auf ASS-Medikation lag präoperativ bei 23,9 %, am 1. postoperativen Tag bei 55,7 % und am 5.-7. postoperativen Tag sogar bei 64,5 %. In Bezug auf die exogen zugesetzte ASS zeigten sich präoperativ in 9,8 %, am 1. postoperativen Tag in 52,9 % und am 5.-7. postoperativen Tag in 41,4 % eine ASS-Non-Response. Die gewonnenen Daten korrelieren präoperativ mit durchschnittlichen Ergebnissen anderer Studien. Überraschend war eine sehr hohe Rate an ASS-Non-Response in der postoperativen Phase: Jeder zweite Patient ist ein ASS-Non-Responder!

6.3 Identifizierung von ASS-Respondern/Non-Respondern

Bis jetzt gibt es keinen einheitlichen „Cut-off“ Wert, um Patienten mit geringem Ansprechen auf Aspirin zu identifizieren. In der Literatur wurden empirisch definierte Werte für die Thrombozytenhemmung mit einer Schwankung zwischen 10 % bis 40 % zugrunde gelegt, um zwischen ASS-Respondern und Non-Respondern zu unterscheiden (Syrbe et al. 2001). So identifizierten z.B. Gum et al. die ASS-Non-Responder nach ACVB-Operation im Thrombozytenaggregationstest anhand des festgelegten Cutt-off-Wertes von < 70 % in der ADP-induzierten Aggregation (mit 10 µM ADP), d.h. Aggregation mit ADP \geq 70 % und des Cutt-off-Wertes von < 20 % in der AA-induzierten Aggregation, d.h. Aggregation mit AA \geq 20 % (Gum et al. 2003). Lev et al. definierten ASS-Non-Response im Aggregationstest, wenn die maximale AA-induzierten Aggregation \geq 20 % und die maximale ADP-induzierte Aggregation \geq 70 % aufwies (Lev et al. 2006).

Um den Cut-off für die Unterscheidung zwischen Respondern und Non-Respondern auf ASS in unserer Studie festzulegen, wurden die Maxima der prä- und postoperativen AA-induzierten Aggregation (mit und ohne Zusatz exogener ASS) hinsichtlich der Häufigkeitsverteilung analysiert (s. Kapitel 5.7). Anhand dieser Kurvenanalyse wurde ein „Cut-off“ für die Einteilung der Studienpatienten in ASS-Responder oder Non-Responder von >30 % der maximalen AA-induzierten Aggregation mit oder ohne Zusatz von exogener ASS festgelegt. Das bedeutet, dass

die Patienten, welche eine unzureichende Thrombozytenhemmung von $\geq 30\%$ aufwiesen, als Non-Responder bezeichnet wurden (s. auch Kapitel 4.1.5).

Die unten dargestellte Abb. 18 zeigt links die Aggregationskurven eines Patienten mit einem positiven Therapieeffekt der niedrig dosierten ASS (100 mg/die). In diesem Fall liegen die Maxima der AA-induzierten Aggregation ohne (rot Kurve) und mit Zusatz exogener ASS (grüne Kurve) unter dem festgelegten Wert von 30 %. Auf der rechten Seite der Abbildung sind die Aggregationskurven eines ASS-Non-Responders sowie auf ASS-Medikation (rote Kurve) als auch auf exogen zugesetzte ASS (grüne Kurve) dargestellt.

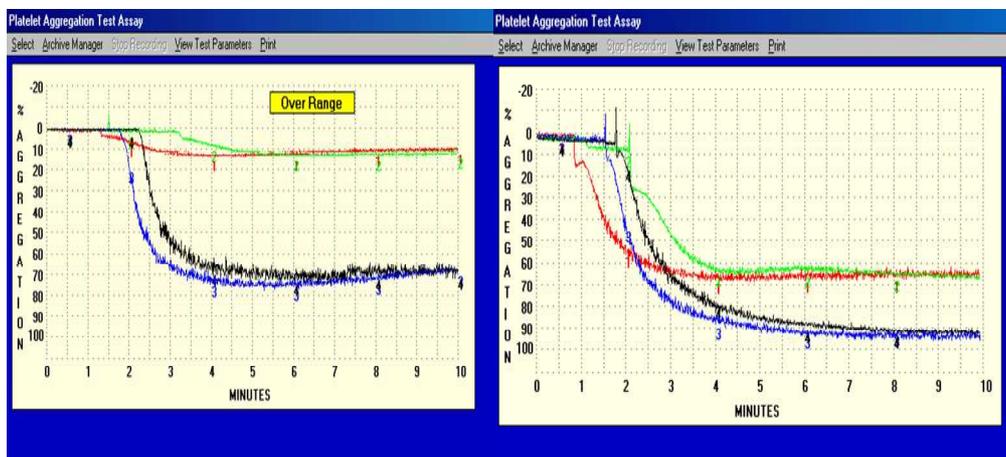


Abbildung 18: Eine suffiziente ASS-Therapie mit 100 mg/die mit der erwarteten Hemmung der AA-induzierten Aggregation (links) sowie Aggregationskurven von einem ASS-Non-Responder mit unzureichender AA-induzierter Plättchenaggregation von $\geq 30\%$ (rechts) (rote Kurve: AA, grüne Kurve: in vitro exogene ASS mit AA, blaue Kurve: $3\mu\text{M}$, schwarze Kurve: ADP $30\mu\text{M}$).

6.4 Stabilität der ASS-Non-Response

Die Stabilität der Thrombozytenhemmung durch ASS für den 1.- und 5.-7. postoperativen Tag wurde anhand exogen zugesetzter ASS analysiert. Hierzu standen die Datenpaare von 98 Patienten zur Verfügung. Diese Analyse zeigte, dass ASS-Responder/Non-Responder, identifiziert am 1. postoperativen Tag, ihre ASS-Response oder Non-Response im Laufe des stationären Aufenthaltes nicht immer beibehalten haben. Einige Patienten wechselten von einer Gruppe in die andere, andere blieben stabil in den definierten Gruppen bis zur letzten Messung. Dabei war der Wechsel von Non-Response zu Response signifikant häufiger als ein Wechsel von Response zu Non-Response (ca. 50% vs fast 30%; $p = 0,039$; s. Kapitel 5.9). Das bedeutete, dass

ca. 60 % der Patienten eine „stabile“ und ca. 40 % der Patienten eine „instabile“ ASS-Response/Non-Response hatten. Diese „instabilen“ ASS-Responder/Non-Responder wiesen signifikante Unterschiede in den Maxima der AA-induzierten Aggregation auf (s. Kapitel 5.9). Das heißt, dass der Wechsel in der Klassifikation (Response zu Non-Response und Non-Response zu Response) nicht auf die Messungenauigkeiten zurückgeführt werden kann.

Diese Ergebnisse zeigen, dass ASS-Non-Response kein konstantes Phänomen ist, da sie einen wechselhaften Charakter zeigt. Die Patienten können schnell von Response zu Non-Response und umgekehrt wechseln, wodurch das klinische Outcome erheblich negativ beeinflusst werden kann.

Um in der postoperativen Phase erneute kardiovaskuläre Ereignisse vorzubeugen, müssen die entsprechenden Tests für die Bestimmung der ASS-Non-Response (wie z.B. mit Hilfe der optischen Aggregometrie nach Born) regelmäßig kontrolliert werden (wie eine routinemäßige Blutbildkontrolle). Außerdem müssen weitere Studien untersuchen, ob ein ähnliches Verhalten der ASS-Non-Response in anderen Patientenkollektiven zu sehen ist und welche Ursachen zu diesem Wechseln führen können.

6.5 Einfluss der ASS-Non-Response auf die ADP-induzierte Aggregation

In der Literatur gibt es Berichte, dass Clopidogrel aspirinsynergetische Effekte auf die AA-induzierte Aggregation zeigt (Hobson et al. 2009). Wir haben uns eine andere Frage gestellt und wollten wissen, ob die ASS-Non-Response einen Einfluss auf die Maxima der ADP-induzierten Aggregation hat. Dafür wurden die Maxima der AA- und ADP-induzierten Aggregation bei den ASS-Non-Respondern und Respondern miteinander verglichen. Die erhaltenen Daten zeigten, dass ASS-Non-Responder in der präoperativen Phase nicht nur - wie erwartet- eine stärkere AA-induzierte Aggregation sondern auch eine stärkere ADP-induzierte Aggregation sowohl mit 3 als auch mit 30 μ M ADP aufwiesen. Dieser Einfluss der ASS-Non-Response/Response ließ sich jedoch am 5.-7. postoperativen Tag nicht mehr nachweisen (s. Kapitel 5.10).

Neben TxA₂ sind auch andere Mediatoren wie z.B. Kollagen, ADP, Katecholamine und Thrombin in der Lage eine Plättchenaggregation zu induzieren. Möglicherweise haben ASS-Non-Responder aufgrund einer überschießenden ADP-Freisetzung durch Aktivierung alternativer

Stoffwechselwege oder einer gleichzeitig bestehenden Clopidogrelresistenz eine stärkere ADP-induzierte Aggregation.

6.6 Hypothesen zur Erklärung der ASS-Non-Response

6.6.1 Einfluss der Risikofaktoren und Co-Morbidität auf ASS-Non-Response

Die überwiegende Zahl unserer Patienten war männlichen Geschlechts und älter als 60 Jahre.

Bei fast allen Patienten konnten wichtige kardiovaskuläre Risikofaktoren festgestellt werden. Eine arterielle Hypertonie hatten alle Studienteilnehmer, bei 37 Patienten (36,3%) war anamnestisch ein akuter Myokardinfarkt eruierbar. 9 Patienten (8,8%) hatten eine manifeste Atherothrombose in dem peripheren arteriellen Gefäßgebiet (pAVK). Bei machen Patienten konnte man chronische Krankheiten anderer Organe feststellen (s. Kapitel 5.1). Wir analysierten, welche dieser Faktoren einen Einfluss auf die ASS-Non-Response/Response haben und stellten fest, dass weder das Alter noch kardiovaskuläre Risikofaktoren oder Co-Morbidität in der Entstehung der ASS-Non-Response eine Rolle spielt.

6.6.2 Geschlechtsunterschiede und ASS-Non-Response

Eine vor kurzer Zeit durchgeführte Metaanalyse von Krasopoulos et al. hat gezeigt, dass Frauen eine sehr hohe Inzidenz an ASS-Non-Response hatten. Diese Daten konnte man aus sieben Studien mit insgesamt 1554 Patienten entnehmen (Krasopoulos et al. 2008). Becker et al. untersuchten die Hemmung des thrombozytären COX-Weges und fanden heraus, dass dieser bei Frauen und Männern durch ASS gleichermaßen effektiv gehemmt wird. Darüber hinaus waren diejenigen Frauen betroffen, für die auch schon vor der ASS-Therapie die stärkste Aggregation ermittelt worden war (Becker et al. 2006). Es konnte auch gezeigt werden, dass Frauen im Rahmen der primären Prävention von ASS im Vergleich mit Männern deutlich weniger profitieren (Ridker et al. 2005, Berger et al. 2006). In der vorliegenden Arbeit war die Zahl der Frauen zu gering um die Unterschiede zwischen Männern und Frauen feststellen zu können: es haben nur 19 Frauen (18,6%) an der Studie teilgenommen. (s. Kapitel 5.1).

6.6.3 BMI und ASS-Non-Response

In der Literatur gibt es Berichte, dass die Anzahl der ASS-Non-Responder mit zunehmendem Körpergewicht ansteigt (Maree et al. 2005, Cox et al. 2006). Wir haben diese Hypothese überprüft und festgestellt, dass es keine Unterschiede in den BMI-Werten zwischen unseren ASS-

Respondern und Non-Respondern gab. Der mittlere BMI der Non-Responder lag bei $27,7 \pm 4,6$ kg/m^2 und der Responder bei $27,5 \pm 3,6$ kg/m^2 .

6.6.4 Individuelle Unterschiede in der Pharmakokinetik von ASS (geringe Bioverfügbarkeit oder geringe Dosis)

Von 88 Patienten, welche bereits ambulant mit ASS behandelt wurden, sind 21 Patienten (23,9%) ASS-Non-Responder gewesen. Von diesen 21 Non-Respondern zeigten 16 Patienten (29,6 %) allerdings eine ausreichende AA-induzierte Aggregation, wenn das PRP 1 Minute lang mit exogener ASS vor der Auslösung der Aggregation vorinkubiert wurde. Das heißt, dass bei diesen 16 Patienten könnte eine fehlende Compliance oder zu geringe Bioverfügbarkeit vorliegen. Das gleiche konnte man beobachten, wenn in das PRP der Non-Responder am 1.- und 5.-7. postoperativen Tag ebenfalls exogene ASS zugesetzt wurde: 12 Non-Responder von 49 (24,6 %) am 1. post-op Tag und 28 Non-Respondern von 63 (44, 4 %) am 5.-7. postoperativen Tag sind zu ASS-Response übergegangen. Eine der möglichen Ursachen dafür ist die zu geringe Dosis. Manche Autoren zeigten, dass es eine individuelle geringe Bioverfügbarkeit gibt (z.b. durch eine geringere Resorption oder schnellere präsystemische Deacetylierung), die angesichts der üblicherweise verwendeten geringen Dosierung um 100 mg/die nicht mehr immer eine ausreichende TxA₂-Synthesehemmung erlaubt (Benedek et al. 2003). Eine Dosiserhöhung kann- muss aber nicht- eine ASS-Non-Response überwinden (s. Kapitel 2.3.3). Einige Patientenkollektive würden aber davon profitieren. So untersuchten Syrbe et al. eine Gruppe der pAVK-Patienten, welche initial mit 30 mg ASS/d behandelt worden sind und eine sehr hohe Rate an ASS-Non-Response aufwiesen. Nach Dosiserhöhung von ASS auf 100, 300 und schließlich auf 500 mg/d, konnte eine unzureichende Hemmung der Thrombozytenfunktion in diesem Patientenkollektiv erheblich reduziert werden (Syrbe et al. 2001). Auch Roller et al. beobachteten, dass die pAVK-Patienten, welche eine niedrig dosierte ASS-Therapie (100 mg/die) bekommen haben und als ASS-Non-Responder identifiziert worden sind, gingen nach der Dosiserhöhung auf 300 mg/die in die ASS-Response über (Roller et al. 2002). Ähnliche Ergebnisse zeigten Wong et al. auch bei pAVK Patienten in ihrer Arbeit (Wong et al. 1996). Sanderson et al. haben gezeigt, dass höhere ASS-Dosen bei Patienten nach ACB-OP (um ca. 325 mg/die) viel effektiver sind, als niedrigere (Sanderson et al. 2005). Auf der anderen Seite sind zahlreiche Studien gelaufen, welche deutlich gezeigt haben, dass höhere ASS-Dosierungen nicht effektiver als niedrige sind. Im Gegenteil, es gibt Hinweise, dass es unter sehr hohen Dosierungen aufgrund der zunehmenden Hemmung der vaskulären Prostacyclin-Synthese zu einer

Abschwächung des antithrombotischen Effekts kommt (Taylor et al. 1999, Antithrombotic Trialists' Collaboration 2002). Außerdem steigt mit zunehmender Dosis die Nebenwirkungsrate an, vor allem lebensbedrohlicher Blutungen wie intrakranielle Blutungen (Farrel et al. 1991, Dutch TIA Trial Study Group 1991). Nach anderen Literaturangaben kann die Empfehlung einer Thrombozytenaggregationshemmung mit niedrig dosierter ASS (100 mg/die) nach ACB-OP abgeleitet werden (Weber et al. 1984). Ferraris et al. empfehlen, dass ASS-Therapie bei Hochrisikopatienten (bes. mit instabiler Angina pectoris und Myokardinfarkt) vor der AC(V)B-OP nicht unterbrochen werden sollte und unmittelbar nach der AC(V)B-OP relativ früh fortgesetzt werden soll (Ferraris et al. 2005).

6.6.5 Medikamentenwechselwirkungen: Einfluss von Opioiden auf ASS-Non-Response

Zu den pharmakokinetischen Mechanismen gehören auch Arzneimittelwechselwirkungen. Einige Medikamente können die Bioverfügbarkeit von ASS negativ beeinflussen. Zum Beispiel, Opiate, welche in der Regel ein Bestandteil der Akut-Therapie des Myokardinfarktes oder postoperativer Schmerztherapie sind, können zu einer verzögerten Magenpassage führen. Dadurch kann die enterale Resorption einer gleichzeitig gegebenen oralen Dosis von ASS erheblich beeinträchtigt sein. Bei solchen Patienten kommt es dadurch zur erhöhten präsystemischen Deacetylierung von ASS. Als Folgen sind eine geringere Bioverfügbarkeit dieses Medikamentes und eine niedrige ASS-Konzentration, welche zur unzureichenden Wirkung führt.

Fast alle Patienten in der vorliegenden Studie wurden in der postoperativen Phase mit Opioiden behandelt. Deswegen haben wir geprüft, inwieweit diese Therapie die ASS-Response/Non-Response beeinflusst. Die Daten zeigten, dass es keine signifikanten Unterschiede in den Maxima der AA- bzw. ADP-Induzierten Aggregation zwischen Patienten mit und ohne Opioidtherapie gab. Also, die gestellte Hypothese, dass ASS-Non-Response durch Opiode ausgelöst werden kann, scheiterte auch.

Routinemäßig wurde der Einfluss der Opioiden auf die exogen zugesetzte ASS überprüft. Überraschend war, dass sich signifikante Unterschiede zwischen den Patienten mit und ohne Opioidbehandlung gezeigt hatten. Die Ursache dafür ist aber noch nicht klar. Man könnte vermuten, dass Patienten mit „echter“ ASS-Non-Response möglicherweise eine niedrigere Schmerzschwelle im Vergleich mit Respondern haben, welche mit einem subjektiv erhöhten Bedarf an „stärkeren“ Schmerzmitteln (wie Opiode) zusammenhängt.

6.6.6 Alternative Stoffwechselwege und Co-Medikation als mögliche Ursache der ASS-Non-Response

A. In jüngster Zeit mehren sich Berichte darüber, dass die Existenz alternativer Stoffwechselwege für die Thrombozytenaktivierung eine mögliche Ursache der ASS-Non-Response sein kann (Cerbone et al.2008). Einer dieser Wege ist die *Erythrozyt-induzierte Thrombozytenreaktivierung*. In der Literatur wird berichtet, dass Erythrozyten in der Lage sind die Thrombozyten über Zell-Zellkontakte zu aktivieren, unabhängig von der hemmenden ASS-Wirkung. In Gegenwart von Erythrozyten erhöht sich die Thrombozytenrekrutierung. Es werden aggregationsfördernde Substanzen wie Serotonin, Thromboglobulin und ADP freigesetzt. Diese Freisetzung, besonders von ADP erhöht die Plättcheninteraktion und begünstigt die trombozytäre TxA₂-Synthese. Die Erythrozyten sind also in der Lage die inhibierende Wirkung von ASS zu dämpfen (Cambria-Kiely and Ganhi 2002). Valles et al. untersuchten auch die Erythrozyt-induzierte Plättchenaggregation. In ihrer Studie wurde der Effekt von „low-dose“ ASS bei Patienten mit KHK bzw. Apoplex untersucht. Der Rekrutmentversuch (Untersuchung der aggregationsauslösenden Wirkung von proaggregatorischen Substanzen, die kurz nach Inkubation einer Zellsuspension mit dem Stimulus entstehen) zeigte, dass in Gegenwart von Erythrozyten ASS die Thrombozyten bei rund 60 % der Patienten nicht adäquat hemmen konnte (Valles et al., 1998).

In unserer Studie erhielten ca. 86,3 % der Patienten bereits prästationär ASS (100 mg/die). Diese prästationäre ASS-Therapie hatte keinen Einfluss auf die präoperativ gemessenen Werte der Thrombozyten- oder Leukozytenzahlen, jedoch zeigten sich signifikante Unterschiede in den Erythrozytenzahlen und Hämoglobin- und Hämatokritkonzentrationen. Patienten mit ambulanter ASS-Therapie wiesen signifikant höhere Erythrozytenzahlen ($p < 0,001$) sowie höhere Hämoglobinkonzentrationen ($p < 0,01$) und Hämatokritwerte ($p < 0,0005$) auf im Vergleich zu den Patienten ohne ASS (s. Kapitel 5.5). Derartige Unterschiede ließen sich postoperativ nicht mehr nachweisen. Es konnten aber keine signifikanten Einflüsse auf ASS-Response/Non-Response bei Patienten mit erhöhten Erythrozytenzahlen sowie mit erhöhten Hämoglobin- und Hämatokritwerten gesehen werden.

Um die Frage zu beantworten, welche Ursachen zu Grunde liegen, dass die Patienten mit prästationärer ASS-Therapie solche Auffälligkeiten des roten Blutes aufwiesen, müssen weitere Studien laufen, welche dieses Phänomen genauer untersuchen können.

Es lässt sich nur vermuten, dass die „aktive“ Krankheitsdauer der Patienten mit präoperativer ASS-Therapie länger ist als bei Patienten ohne prästationäre ASS-Therapie (bei den ersten - seit Jahren diagnostizierte und behandelte KHK, mehrere Krankenhausaufenthalte, evt. Z.n. ACVB-OP u.s.w, bei den zweiten - Erstmanifestation oder neu diagnostizierte KHK, bis vor kurzem noch stumm verlaufende Atherosklerose) verläuft. Wenn das so ist, dann besteht bei diesen Patienten auch länger die manifeste Atherothrombose mit allen dazu gehörenden Konsequenzen. Aus diesem Grund kann die erhöhte Erythrozytenzahl bei Patienten mit ASS-Therapie nicht die Folge dieser Therapie, sondern die Folge einer langjährigen Atherosklerose sein. Man könnte sich folgenden Mechanismus vorstellen: Im Laufe der Zeit nach Verabreichung eines Thrombozytenaggregationshemmers versucht der Körper sein vor dem Therapiebeginn erhöhtes thrombophiles Niveau wiederherzustellen, indem er nach alternativen Stoffwechselwegen für die TxA₂-Synthese sucht. Gelingt dies, fehlt die Hemmung der Thrombozytenaggregation durch ASS, der Patient entwickelt ASS-Non-Response und folglich thromboembolische Komplikationen. Diese Hypothese ist insofern plausibel, wenn man dran denkt, dass mit dem zunehmenden Alter die Komplikationsrate für vaskuläre Ereignisse erheblich ansteigt. In der postoperativen Phase wurden keine signifikanten Unterschiede gesehen. Das könnte auf einen perioperativen Blutverlust mit daraus resultierender Erniedrigung der Erythrozyten- und Hämoglobinzahlen zurückgeführt werden.

Weitere Studien müssen auch untersuchen, ob eine erhöhte Erythrozyten- und Hämoglobinzahl ein Kriterium oder ein Marker für ein erhöhtes Risiko thromboembolischer Komplikationen sein kann.

B. Einige Studien haben gezeigt, dass ASS-Non-Responder mit einer stabilen KHK durch eine zusätzliche Gabe von 75 mg Clopidogrel tatsächlich signifikant weniger kardiovaskuläre Ereignisse zu beklagen hatten (Pamukcu et al. 2007). Ähnliche Ergebnisse zeigten sich in der Arbeit von Kayacioglu et al, welche Patienten nach einer AC(V)B-OP untersucht haben. Die Autoren konnten zeigen, dass die Kombinationstherapie - ASS 100 mg/die und Clopidogrel 75 mg/die - viel effektiver ist als nur eine Monotherapie mit ASS bei AC(V)B-Patienten, welche eine erhöhte Thrombozytenreaktivität haben (Kayacioglu et al. 2008).

Um die Frage zu beantworten, inwiefern die Clopidogreltherapie ASS-Non-Response/Response beeinflusst, wollten wir zuerst überprüfen, ob Clopidogrel seine Wirkung in der ADP-Induzierten Aggregation überhaupt zeigt. Es ließen sich tatsächlich signifikante Clopidogrel-Effekte auf die Maxima der ADP-induzierten Aggregation sowohl mit 3 als auch mit 30 µM ADP nachweisen.

Dabei war die Hemmung der ADP-induzierten Aggregation am 5.-7. postoperativen Tag stärker ausgeprägt als präoperativ, was zum Teil auf ein präoperatives Absetzen der Clopidogreltherapie zurückgeführt werden könnte. Jedoch wurden zu keiner Zeit signifikante Unterschiede in der AA-induzierten Aggregation zwischen Patienten mit und ohne Clopidogrel festgestellt. Das widerspricht den Ergebnisse der Studie von Hobson et al. (Hobson et al. 2009).

Auch bei der Prüfung, inwieweit Clopidogrel die Anzahl der Non-Responder auf die ASS-Behandlung oder auf die exogen zugesetzte ASS beeinflusst, wurden keine signifikanten Effekte beobachtet. Interessant war nur, dass bei der Testung auf exogene ASS in der Gruppe mit Clopidogrel keine Non-Responder gefunden wurden. Möglicherweise kann die Kombinationstherapie mit zusätzlicher Clopidogrel-Gabe die Langzeitergebnisse positiv beeinflussen. In unserer Studie konnten wir Patienten in der postoperativen Phase nur bis zum max. 5.-7. Tag beobachten.

6.6.7 Mangelnde Compliance und ASS-Non-Response

Studien haben gezeigt, dass mehr als 40 % der KHK-Patienten Compliancestörungen aufweisen (Hankey and Eikelboom 2006). So untersuchten Schwartz et al. die AA-induzierte Thrombozytenaggregation bei 190 ASS behandelten Patienten, die in der Vergangenheit einen Myokardinfarkt erlitten hatten. Bei 17 Patienten (9%) wurde keine Hemmung der Aggregation beobachtet. Anschließend erhielten die Patienten unter Aufsicht 325 mg ASS. Zwei Stunden später wurde die Aggregation erneut überprüft, diesmal zeigte nur ein Patient eine nicht inhibierte Aggregation (Schwartz et al. 2005, 2008).

Cotter et al. bestimmten bei 73 KHK-Patienten, welche trotz der durchgeführten ASS-Therapie einen akuten Myokardinfarkt erlitten und ihn überlebten, die TxB₂-Konzentrationen im Serum und identifizierten 21 Patienten mit intakter TxB₂-Produktion. Nach eingehender Befragung stellte sich heraus, dass mehr als die Hälfte dieser Patienten (12 von 21 Patienten) ASS nicht oder nur unregelmäßig eingenommen hatte. In einem 12- monatigen Follow-up haben die o.g. Autoren gezeigt, dass die Patienten mit Non-Compliance eine höhere Inzidenz sowohl erstmanifestierter als auch rekurrenter kardiovaskulärer Ereignisse (42 %) im Vergleich mit den Patienten ohne Compliancestörung (6 % und 11 %) aufweisen (Cotter et al. 2004). Auch kurzfristige Unterbrechungen der ASS-Therapie, z.b. für zahnärztliche Eingriffe, sind mit einem erhöhten Risiko für koronare Ereignisse assoziiert (Ferrari et al. 2005, Iakovou et al. 2005, Biondi-Zoccai et al. 2006). Sicherlich gab es in unserer Studie Patienten, welche Complianceprobleme hatten (s. auch Kapitel 6.6.4). Die genaue Zahl solcher Patienten kann nicht angegeben werden, da die

aufwendige und kostenintensive Metabolitbestimmung von ASS im Blut und Urin nicht durchgeführt wurde.

Für eine mangelnde Compliance in der präoperativen Phase spricht bei Patienten unserer Studie die festgestellte Differenz zwischen ASS-Non-Response auf Medikation und exogen zugesetzte ASS. In der früh-postoperativen Phase spielt dagegen eine geringere Bioverfügbarkeit eine grössere Rolle.

6.6.8 Einfluss der NSAR auf ASS-Non-Response

Erstmals wurde von Rao et al. berichtet, dass Ibuprofen die antithrombozytäre Wirkung von ASS beeinflussen kann (Rao et al. 1983). Diese Beobachtung bestätigten Catella Lawson et al., als die Untersuchungen an gesunde Probanden durchgeführt wurden (s. Kapitel 1.3.3). Bevor ASS den Serin-Rest 529 der COX acetyliert (siehe Abb. 1), geht ASS im Eingangsbereich der COX eine schwache Bindung mit der Aminosäure Arg 120 ein, eine Bindungsstelle, die auch von dem kompetitiven COX-Inhibitor Ibuprofen besetzt wird (Mancini et al. 1995). Wenn Ibuprofen vor ASS verabreicht wird oder bei gleichzeitiger Gabe infolge einer Konkurrenz als erster an diese Stelle bindet, kommt es zu einer Verhinderung der irreversiblen Hemmung der COX durch ASS. Aufgrund einer sehr kurzen HWZ von ASS ($t_{1/2} = 15 - 20$ min.) ist keine effektive Konzentration von ASS mehr vorhanden, wenn Ibuprofen später (nach Stunden) die COX wieder verlässt. Eine Erholung von COX-1 Aktivität und thrombozytärer TxA₂-Synthese ist die Folge. Dies erklärt, warum die Patienten trotz ASS-Einnahme eine unzureichende Hemmung der Thrombozytenfunktion haben, und dass der Zusatz von ASS in vitro sowohl die TxB₂-Bildung als auch die Aggregation reduzieren kann (Bierend 2008). Generell scheinen die NSAIDs, die bevorzugt die COX-2 hemmen, nicht mit ASS zu interagieren; das konnte z.B. für Diclofenac (Catella Lawson et al. 2001), Celecoxib (Wilneret al. 2002, Renda et al. 2006, Gladding et al. 2008) und für das vom Markt genommene Rofecoxib (Catella Lawson et al. 2001) gezeigt werden. Eine Abschwächung der antithrombozytären ASS-Wirkung wurde nur für nicht-selektive COX-Hemmer nachgewiesen – neben Ibuprofen auch für Naproxen (Capone et al. 2005, Gladding et al. 2008) und Indometacin (Livio et al. 1982, Gladding et al. 2008). Interessante Ergebnisse zeigten sich in einer prospektive Studie von Kim und Hohlfeld, durchgeführt schon an den KHK-Patienten, welche sich einer ACB-Operation unterzogen haben. Die Autoren haben gezeigt, dass bei einem Teil der Patienten eine verminderte Sensitivität der Thrombozyten gegenüber anderen NSAID (ebenfalls COX-Inhibitoren) besteht (Kim 2007). Die Hemmung der Thrombozytenfunktion durch ASS im Vergleich zu ausgewählten Substanzen (Indometacin,

Diclofenac, Naproxen, Flurbiprofen und Piroxicam) wurde an PRP untersucht. Zur Beurteilung der Thrombozytenfunktion wurden die Thrombozyten-Aggregation und die thrombozytäre Thromboxan-Synthese gemessen. Die postoperative Prophylaxe arterieller Thrombosen wurde ab dem ersten Tag nach ACB-OP routinemäßig mit ASS (100 mg/d) durchgeführt. Die Thrombozytenfunktion war postoperativ (Tag 5) trotz dieser ASS-Behandlung nicht inhibiert. Auch durch in vitro Zugabe von ASS in Konzentrationen bis zu 100 µM wurde die Thrombozytenfunktion bei mehr als der Hälfte der Patienten nicht vollständig gehemmt. Bei diesen ASS-Non-Respondern bestand insgesamt ebenfalls eine verminderte Hemmbarkeit durch die untersuchten NSAID, wobei jedoch Unterschiede bestanden: Bei Indometacin und Diclofenac, beides Acetyl-substituierte Verbindungen, ergab sich ein besonders deutlicher und signifikanter Unterschied zwischen den IC50-Werten von ASS-Non-Respondern und ASS-Respondern. Etwas weniger, aber ebenfalls noch statistisch signifikant, war die Hemmung durch das Propionsäurederivat Flurbiprofen bei den ASS-Non-Respondern vermindert. Demgegenüber ergab sich bei Naproxen und Piroxicam (letzteres ohne Carboxylgruppe) nur ein tendenzieller Unterschied in der Thrombozytenaggregations- und Thromboxansynthesehemmung. In einer neulich publizierten Arbeit von Hohlfeld et al. 2008 an gesunden Probanden haben die Autoren gezeigt, dass auch Metamizol (engl. Dipyrone) der Pyrazolongruppe (engl. Pyrazolinone) in Form seines aktiven Metabolites (4-Methylaminoantipyrine (MAA)) mit ASS interagiert. Das führt zur Abschwächung der antithrombotischen Wirkung von ASS (Hohlfeld et al. 2008). Zur Pyrazolongruppe gehören: Phenazon, (Migräne-Kranit®, Eu-Med®), Propyphenazon, (Demex®), Metamizol (engl. dipyrone, optalgin) (Novalgin®), Aminophenazon (in Deutschland nicht mehr auf dem Markt). Aufgrund einer sehr ähnlichen molekularen Struktur aller Pyrazolinonderivate (4-methylphenazone, 4-bromophenazone) können alle Medikamente dieser Gruppe den o.b. Mechanismus entwickeln.

In der vorliegenden Studie erhielten alle Patienten postoperativ Metamizol i.v. in einer Dosierung von 4 g/die. Aufgrund fehlender Dokumentation (keine genauen zeitlichen Angaben der Verabreichung von Metamizol und ASS und ihre Reihenfolge), ließ sich nicht prüfen, ob Metamizol die ASS-Non-Response beeinflusste. Um diese Hypothese nachweisen oder ausschließen zu können, sind weitere Studien notwendig, in welchen Patienten in der postoperativen Phase in 2 Gruppen eingeteilt würden: die erste Gruppe bekommt dann ,verabreicht im Rahmen der Schmerztherapie, wie es üblich ist, Metamizol i.v., eine andere

Gruppe dagegen soll entweder mit einem selektiven COX-2 Hemmer oder einem beliebigen Analgetikum, welches die trombozytäre COX-1 nicht blockiert, behandelt werden.

In unserer Studie wurden zusätzlich Messungen mit PRP von 5 gesunden Probanden durchgeführt, die hierfür ASS über einen Zeitraum von 3 Tagen mit identischer Dosis (100 mg/die) und anschließend Metamizol (3 g/die) in Kombination mit ASS (100 mg/die) peroral innerhalb von weiteren 2 Tagen einnahmen. Hier konnte kein Zusammenhang zwischen Metamizol und ASS-Non-Response gesehen werden.

Die Schlussfolgerung ist, dass in mehreren Studien ein Zusammenhang zwischen kombinierter Therapie (ASS mit NSAID) und einem erhöhten Risiko für tödliche und nicht-tödliche vaskuläre Komplikationen gesehen wurde (Kurth et al. 2003, MacDonald et al. 2003). NSAIDs zählen zu den sehr häufig eingenommenen Arzneimitteln in der Bevölkerung. Aus diesem Grund scheint die Gefahr thromboembolischer Ereignisse recht hoch zu sein (FitzGerald 2003). Dementsprechend ist es sehr wichtig, dass Ärzte, welche diese Medikamente verschreiben, darüber aufgeklärt sind. Jedoch dann besteht das Problem, dass einige NSAIDs ohne Rezept auf der Apotheke erhältlich sind, wie z.B. Ibuprofen und Naproxen.

6.6.9 Andere Arzneimittelinteraktionen

In der Literatur lassen sich verschiedene und kontroverse Aussagen über den Einfluss einiger Hypnotika und volatiler Anästhetika auf die Plättchenfunktion finden (Kitamura et al., 2001). So wurde z.B. unter dem Einfluss von Thiopental eine gesteigerte sekundäre Plättchenaggregation beschrieben, und unter Einsatz von Enfluran konnte ein Anstieg der TxA₂-Synthese beobachtet werden. Eine direkte Beeinflussung der Plättchenfunktion durch Anästhetika scheint daher möglich, jedoch besteht für eine Interferenz mit ASS kein unmittelbarer Anhaltspunkt. Deswegen muss die Forschung auch in diese Richtung gehen um dieses Konzept genauer zu untersuchen.

6.6.10 Hyperreaktivität der Thrombozyten

Ein weiterer möglicher Erklärungsansatz der ASS-Non-Response ist die Hyperreaktion der Plättchen. Das bestätigte sich in den Untersuchungen an gesunden Probanden (Kawasaki et al., 2000) sowie bei Patienten mit KHK (Calverley et al., 2002). Auch nach AC(V)B-Operation wurde eine thrombozytäre Hyperreaktivität beobachtet. Hierfür untersuchte die Arbeitsgruppe von Golanski Plättchen von 32 AC(V)B-Patienten mittels Kollagen (2 µg/ml)- und ADP (20 µM)-induzierter Vollblutaggregometrie sowie Scherkraft-induzierter Plättchenadhäsion (PFA) an einer Kollagen-beschichteten Membran. Zudem testeten sie auf genetischen Variationen der thrombozytären Glykoproteinstruktur mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR). Sie zeigten eine

thrombozytäre Hyperreaktion bei 47 % der Patienten nach Stimulation mit Kollagen (Impedanz > 24 Ω) und bei 41 % der Patienten nach Stimulation mit ADP (Impedanz > 12 Ω). Die aktivierten Plättchen wiesen zudem häufiger einen Polymorphismus der Adhäsionsmoleküle GPIa (GPIa⁸⁰⁷C/T) und der IIIa-Untereinheit des GPIIb/IIIa-Rezeptors (GPIIIa P1^{A1/A2}) auf als weniger aktive Thrombozyten (Golanski et al., 2001). Die Autoren folgerten eine Verbindung zwischen Hyperreaktivität der Plättchen und der Glykoproteinstruktur. Offensichtlich existieren mehrere unterschiedliche Ansätze für eine thrombozytäre Hyperreaktivität.

6.6.11 COX-unabhängige Bildung von Isoprostanen

Isoprostane sind biologisch aktive PG-ähnliche Verbindungen, die auf nichtenzymatischem Weg aus AA durch Lipidperoxidation mit Sauerstoffradikalen entstehen (Morrow et al., 1990). Es gibt Hinweise, dass Isoprostane auch durch die Aktivität der COX produziert werden (Pratico et al., 1995). F2 Isoprostane gehören zu der Familie der PGF₂ α -Isomere und können im Plasma und im Urin nachgewiesen werden (Awad et al., 1993). Eines dieser Isomere, 8-iso-PGF₂ α , ist ein starker Vasokonstriktor, kann von aktivierten Thrombozyten gebildet werden und wirkt aggregationsfördernd. 8-iso-PGF₂ α führt dosisabhängig zu einer irreversiblen Plättchenaggregation in Anwesenheit von Plättchenagonisten wie Kollagen, ADP und AA. Isoprostane wurden auch im Plasma von Patienten nach AC(V)B-OP nachgewiesen (Delanty et al., 1997). ASS in niedriger Dosierung konnte dabei die Isoprostanbildung nicht unterdrücken. Daher könnten Isoprostane und ihre Plättchenaktivierungswege zur ASS-Non-Response beitragen. Diese Hypothese konnte in unserer Studie nicht überprüft werden.

6.6.12 Genetische und erworbene Veränderungen, COX-2 Expression sowie Interaktionen von Thrombozyten mit kernhaltigen Zellen

Auf diese Ursachen wurde im Kapitel 2.3.3 ausführlich eingegangen.

6.6.13 Andere Ursachen wie Rauchen und Hypercholesterinämie

Das Rauchen stellt das große Risiko für Entwicklung der KHK und steht in Verbindung mit der Bildung von 8-isoPG-F₂ und TxA₂ im Urin (Tseeng et al. 2009). Studien haben gezeigt, dass das Rauchen trotz ASS-Therapie die Thrombozytenaggregation erhöht (Blache 1995) und eine NO abhängige Vasodilatation induziert (Ichiki et al. 1996).

6.7 ASS-Non-Response und Diabetes mellitus

Thrombozyten und aktivierte Thrombozyten spielen eine große Rolle bei unterschiedlichen kardiovaskulären Erkrankungen wie Transplantatvaskulopathie nach Herztransplantation, akute cerebrovaskuläre Ischämie (TIA, Stroke) und Atherosklerose bei Diabetes mellitus.

Diabetes mellitus ist die häufigste endokrine Störung, welche multiple mikro- und makrovaskuläre Komplikationen (wie KHK, Apoplex, schwere pAVK, Nephropatie und Retinopathie) zur Folge hat. Mehrere Studien belegen, dass Diabetiker eine höhere Plättchendegradation und erhöhte TxA₂-Synthese im Vergleich zu den Nicht-Diabetikern haben. Außerdem ist das Vorhandensein großer Zahl von „jungen“ Thrombozyten im Blut und/oder Thrombozytenfunktionsstörungen nachweisbar (Davi et al.1996, Cerbone et al.2008). Aufgrund der o.b. Komplikationen besteht bei dieser Patientengruppe die Indikation zur Prophylaxe der thrombotischen Ereignisse mittels Thrombozytenaggregationshemmer (wie Z. B. ASS und Clopidogrel). Trotzdem weisen Patienten mit Diabetes mellitus eine große Zahl von ASS-Non-Response auf. Tschoepe et al. stellen fest, dass die Thrombozyten von Diabetikern größer sind und eine gesteigerte Aggregabilität und Adhäsivität haben (Tschoepe D. et al. 1993, Tschoepe D. et al. 1997). Ferner ist die Expression von thrombozytären aktivierungsunabhängigen als auch aktivierungsabhängigen Membranglycoproteinen wie GPIIb (Bindungsstelle für vWF), GPIIb/IIIa (Fibrinogenrezeptor), P-Selectin u.a. gesteigert. Zudem wiesen Plättchen von Diabetikern eine Veränderte Ca²⁺/Mg²⁺ Homöostase auf. Der AA-Metabolismus ist verändert, die TxA₂-Synthese gesteigert, die Prostacyclin und NO-Produktion vermindert (Colwell et al. 2003, Ferroni et al. 2004). Außerdem liegt beim Diabetiker neben der gesteigerten Plättchenaktivierung auch eine gesteigerte plasmatische Gerinnung vor (Creager et al. 2003). Sowohl das endogene als auch das exogene Gerinnungssystem sind betroffen und die prokoagulatorische Faktoren sind erhöht. Auf der anderen Seite wird dieses Gleichgewicht noch zusätzlich durch die Erhöhung von PAI-I und der gleichzeitigen Verminderung der Fibrinolyse gestört. Somit ist der Diabetes mellitus mit einem hoch prothrombotischen Zustand verbunden. Dieser hoch prothrombotische Zustand mit den aktivierten Blutplättchen und der gesteigerten plasmatischen Gerinnung wird durch die endotheliale Dysfunktion beim Diabetiker weiter aggraviert. Die chronische Hyperglykämie führt zur Bildung von Protein-Glykosylierungsprodukten, welche die Synthese und Freisetzung von PG (PGI₂) und von Stickoxid (NO) am Gefäßendothel und in glatten Muskelzellen vermindert.

Insgesamt liegt beim Diabetiker ein hoch prothrombotischer Zustand mit aktivierten Plättchen, einer gesteigerten Gerinnung bei gleichzeitiger Aufhebung der antithrombotischen Eigenschaften der Gefäßwand vor.

Wir gingen dieser Frage nach, um zu prüfen, welche Rolle Diabetes mellitus, Typ II in unserem Patientenkollektiv für die Entstehung von ASS-Non-Response hatte. Die Ergebnisse zeigten, dass sich keine signifikanten Unterschiede in den Maxima der AA- und ADP-induzierten Aggregationen zwischen ASS-bahandelten Patienten mit und ohne Diabetes mellitus nachweisen ließen. Es zeigten sich auch keine Unterschiede, wenn die AA-induzierte Aggregation mit in vitro zugesetzter ASS durchgeführt worden ist.

6.8 Einfluss der HLM auf ASS-Non-Response

Herzchirurgische Eingriffe mit der HLM haben einen negativen Einfluss auf den gesamten Körper mit postoperativen Störungen fast aller Vitalfunktionen: der *Lungenfunktion* (eine ausgeprägte respiratorischen Insuffizienz bis hin zum Vollbild eines ARDS (Ng et al 2002)), der *Nierenfunktion* (Chertow et al 1997) und des *zentralen Nervensystems* (cerebrale Insulte durch Mikroembolien (Blauth et al 1992 und Ascione et al 2002)). Außerdem führen Sie zu einer Entzündungsreaktion, einem erhöhten thrombozytären Umsatz und zur Beeinflussung der Thrombozytenfunktion (Lahat et al 1992; Strüber et al 1999; Schulze et al 2000; Casati et al 2001). Zimmermann beschrieb einen deutlich beschleunigten Thrombozytenumsatz bei Patienten nach einer AC(V)B-OP, welcher zu einer deutlich reduzierten Wirksamkeit von ASS führte (Zimmermann et al. 2003). Wenn der Anteil zirkulierender Thrombozyten mit nicht acetylierter COX über 10% steigt, ist keine ausreichende Aggregationshemmung mehr gewährleistet (Di Minno et al. 1983).

Auch diese Hypothese konnte in unserer Studie nicht bestätigt werden: es gab keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die Häufigkeit von ASS-Non-Response zwischen den Patienten mit und ohne HLM. Interessant war, dass die Patienten mit HLM signifikant seltener am 1. postoperativen Tag ASS erhielten im Vergleich mit Patienten ohne HLM. Möglicherweise könnte das auf einen schwereren Verlauf und Allgemeinzustand zurückgeführt werden. Betreffend des erhöhten Thrombozytenumsatzes, wurde festgestellt, dass sich die präoperativen Thrombozytenzahlen der Patienten von denen in der postoperativen Phase signifikant unterschieden (mit einem deutlichen Abfall der Thrombozyten am 1.- und etwas weniger aber

immer noch signifikant am 5.-7. postoperativen Tag: $p < 0,005$; $p < 0,001$) (s. Kapitel 5.4, 5.5 und 5.11).

Also, die extrakorporale Zirkulation scheint demzufolge keinen Einfluss auf die Entstehung einer postoperativen ASS-Non-Response zu haben. Ähnliche Ergebnisse zeigten sich in einer weiteren Studie auch bei ACB-Patienten, welche eine verzögerte Kinetik der COX-Hemmung durch ASS aufwiesen (AC Wenk 2006).

6.9 Komplikationen in der peri- und postoperativen Phase

Da ein ASS-Non-Responder einem erhöhten Risiko für wiederkehrende vaskuläre Ereignisse ausgesetzt ist, wollten wir untersuchen, welche Komplikationen unsere Studienpatienten aufwiesen und welche Rolle dabei ASS-Non-Response spielt.

Es wurde eine Analyse durchgeführt, welche die Häufigkeit und Komplikationsart bei den Studienpatienten untersucht hat. So erlitten z.B. 2 Patienten (2,0 %) postoperativ einen akuten Myokardinfarkt. Einen Bypass-Verschluss hatten 3 Patienten (2,9 %), einer wurde dabei rethorakotomiert. 2 weitere notfallmäßige Re-Thorakotomien (2,0 %) erfolgten aufgrund einer akuten Perikardtamponade durch Perikarderguss. Reanimationspflichtig waren 6 Patienten (5,9 %). SIRS diagnostizierte man in 9 Fällen (8,8 %), 2 Patienten verstarben leider daran. Die weiteren 2 Todesfälle traten bei Patienten mit einem Low-Output-Syndrom bei deutlich reduzierter rechtsventrikulärer Pumpfunktion auf. Unmittelbar nach der Operation erlitten 3 Patienten (2,9 %) einen Apoplex, einer war embolischer und 2 ischämischer Genese. Eine dialysepflichtige Patientin mit Diabetes mellitus, Typ II hatte einen postoperativ aufgetretenen Visusverlust. Es war jedoch sehr überraschend festzustellen, dass die o.B. lebensbedrohlichen Komplikationen (nur bis auf 2 Ausnahmen) - Non-Responder (entweder auf ASS-Medikation oder auf exogene ASS) aufwiesen (s. Tabelle 6 im Kapitel 5.6).

Bei der Auswertung dieser Daten wurde aufgrund geringer Anzahl der Ereignisse keine statistische Analyse durchgeführt. Deswegen lässt sich nur vermuten, dass ASS-Non-Response bei kardiochirurgischen Patienten postoperativ ein schwerwiegendes Problem in der Hinsicht auf das klinische Outcome darstellen könnte.

7 Schlussfolgerung

Die erhaltenen Daten zeigten, dass die Häufigkeit der ASS Non-Response in der postoperativen Phase bei kardiochirurgischen Patienten überraschend hoch war: Jeder zweite Patient war ein ASS-Non-Responder. Auch präoperativ wiesen AC(V)B-Patienten, wenn auch nicht in so einem hohen Ausmaß, die ASS-Non-Response auf.

Die bisherigen bekannten Konzepte zur Erklärung des Therapieversagens durch ASS, wie Einfluss der HLM oder Co-Medikation sowie Arzneimittelwechselwirkungen, wie z.B. Opioidtherapie u.a., konnten hier nicht nachgewiesen werden.

In der vorliegenden Studie zeigte sich ein sehr interessantes Phänomen: ASS-Non-Response wies einen wechselhaften Charakter auf: unsere Non-Responder gingen von ASS-Response zu Non-Response und umgekehrt innerhalb des gesamten Beobachtungszeitraums über.

Aufgrund der Ergebnisse ist es aus unserer Sicht wichtig, die genannten Tests zur Feststellung einer unzureichenden Hemmung der Thrombozytenaktivierung durch ASS bei allen Patienten in der postoperativen Phase routinemäßig wiederholt durchzuführen. Dadurch könnten thromboembolische Komplikationen reduziert werden.

Außerdem ist eine standardisierte Thrombozytenfunktionsdiagnostik, die insbesondere auch die Hemmung der thrombozytären TXA₂-Synthese durch ASS verifiziert, scheint unerlässlich zu sein. Auch eine einheitliche Definition der ASS-Non-Response soll festgelegt werden, welche weiteren Untersuchern ermöglicht, die gesamte Datenbank, aller bis jetzt gelaufenen Studien, zu strukturieren und die pharmakologischen Ansätze zur Überwindung dieses Problems im klinischen Alltag zu finden.

8 Literatur

A

- Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Ramírez C, Cavallari U, Trabetti E, Sabaté M, Jimenez-Quevedo P, Hernández R, Moreno R, Escaned J, Alfonso F, Bañuelos C, Costa MA, Bass TA, Pignatti PF, Macaya C (2005). Lack of association between the P2Y12 receptor gene polymorphism and platelet response to Statine in patients with coronary artery disease. *Thromb Res.* 2005;116(6):491-7. Epub 2005 Apr 20
- Angiolillo DJ, Bernardo E, Ramirez C et al (2006). Insulin therapy is associated with platelet dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus on dual oral antiplatelet treatment. *J Am Coll Cardiol* 48:298-304
- Angiolillo DJ et al. (2007). Randomized comparison of high Statine maintenance dose in patients with diabetes mellitus and coronary artery disease: results of optimizing antiplatelet therapy in diabetes mellitus (OPTIMUS) study. *Circulation* 11:708-716
- Antiplatelet Trialists' Collaboration: Collaborative overview of randomised trials of antiplatelet therapy-I Prevention of death, myocardial infarction, and stroke by prolonged antiplatelet therapy in various categories of patients. *Br Med J* (1994); 308:81-106
- Antithrombotic Trialists' Collaboration (ATC) (2002) Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *Br Med J* (2002); 324:71-86
- Antry EH, Loscalzo J (2000). Aspirin (Review). *Circulation* 2000; 103:363-368
- Ascione R., Reeves B.C., Chamberlain M.H., Ghosh A.K., Lim K.H. and Angelini G.D. (2002). Predictors of stroke in the modern era of coronary artery bypass grafting: a case control study. *Ann Thorac Surg.* 74 (2), 474-480
- Awad JA, Morrow JD, Takahashi K, Roberts LJ 2nd. Identification of non-cyclooxygenase-derived prostanoid (F2-isoprostane) metabolites in human urine and plasma. *J Biol Chem* 1993; 268: 4161-4169

B

- Becker DM, Segal J, Vaidya D, Yanek LR, Herrera-Galeano JE, Bray PF, Moy TF, Becker LC, Faraday N (2006) Sex differences in platelet reactivity and response to low-dose aspirin therapy. *JAMA* 295(12): 1420-1427

- Belton O, Byrne D, Kearney D, Leahy A, Fitzgerald DJ (2000). Cyclooxygenase-1 and -2-dependent prostacyclin formation in patients with atherosclerosis. *Circulation* 102(8):840-845
- Benedel IH, Joshi AS, Pieniaszek HJ, King SYP, Kornhauser DM (1995). Variability in the pharmacokinetics and pharmacodynamics of low dose aspirin in healthy male volunteers. *J Clin Pharmacol* 1995; 35:1181-9
- Berger JS, Roncaglioni MC, Avanzini F, Pangrazzi I, Tognoni G, Brown DL (2006) Aspirin for the primary prevention of cardiovascular events in women and men: a sex-specific meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA* 295(3): 306-313 [Erratum (2006), *JAMA* 295(17): 2002]
- Berthold H. „Klinikleitfaden Arzneimitteltherapie“ 2. Auflage. *Urban und Fischer*
- Bevilacqua S, Alkodami AA, Volpi E, Cerillo AG, Berti S, Glauber M, Gianetti J (2009). Risk stratification after coronary artery bypass surgery by a point-of-care test of platelet function. *Ann Thorac Surg.* 2009 Feb;87(2):496-502
- Bierend A, Dissertation „ASS-Resistenz“ bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung“, (2008). Betreuer Prof. Dr. med. Thomas Eschenhagen
- Biondi-Zoccai GG, Lotrionte M, Agostoni P, Abbate A, Fusaro M, Burzotta F, Testa L, Sheiban I, Sangiorgi G (2006) A systematic review and meta-analysis on the hazards of discontinuing or not adhering to aspirin among 50,279 patients at risk for coronary artery disease. *Eur Heart J* 27(22): 2667-2674
- Blache D. (1995). “Involvement of hydrogen and lipid peroxides in acute tobacco smoking-induced platelet hyperactivity”. *Am J Physiol.* (1995); 268:H679-H685.
- Bizzozero J: Über einen neuen Formbestandteil des Blutes und dessen Rolle bei der Thrombose und der Blutgerinnung. *Arch pathol Anat* 90 (1882) 261-332 und Tafel V
- Bode-Böger SM, Böger RH, Schubert M, Frölich JC (1998). Effects of very low dose and enteric-coated acetylsalicylic acid on prostacyclin and thromboxane formation and on bleeding time in healthy subjects. *Eur J Clin Pharmacol* 54(9-10): 707-714
- Blauth C.I., Cosgrove D.M., Webb B.W., Ratliff N.B., Boylan M., Piedmonte M.R. (1992) Atheroembolism from the ascending aorta. An emerging problem in cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 103(6), 1104-1111
- Böger RH, Bode-Böger SM (1993). Endothelial dysfunction in peripheral arterial occlusive disease from basic research to clinical use. *Vasa* 26(3): 180-184

- Braunwald E, Antman EM, Beasley JW, et al. ACC/AHA (2002). Guideline update for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction-summary article: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association task force on practice guidelines (Committee on the Management of Patients with Unstable Angina). *J Am Coll Cardiol* (2002); 40: 1366-1374.
- Breddin HK, Krzywanek HJ, Althoff P, Kirchmaier CM, Rosak C, Schepping M, Weichert W, Ziemer M, Schöffling K, Uberla K. Spontaneous platelet aggregation and coagulation parameters as risk factors for arterial occlusions in diabetics. Results of the PARD-study. *Int Angiol.* (1986) Jul-Sep;5(3):181-95.
- Brown BG, Cukingnan RA, DeRouen T, Goede LV, Wong M, Fee HJ, Roth JA, Carey JS (1985). Improved graft patency in patients treated with platelet-inhibiting therapy after coronary bypass surgery. *Circulation* 72(1): 138-146
- Brun, Schambeck, Hach-Wunderle. „Hämostaseologie für die Praxis“. *Schattauer*

C

- Calverley DC, Brass E, Hacker MR et al. Potential role of platelet FcγRIIA in collagen-mediated platelet activation associated with atherothrombosis. *Atherosclerosis* (2002); 164: 261-267
- Capone ML, Sciulli MG, Tacconelli S, Grana M, Ricciotti E, Renda G, et al. (2005). Pharmacodynamic interaction of naproxen with low-dose aspirin in healthy subjects. *J Am Coll Cardiol* (2005); 45:1296-301
- Casati V, Gerli C, Franco A, Della Valle P, Benussi S, Alfieri O, Torri G, D'Angelo A (2001). Activation of coagulation and fibrinolysis during coronary surgery: on-pump versus off-pump techniques. *Anesthesiology* (2001); 95: 1103-1109.
- Catella Lawson F, Reilly MP, Kapoor SC, Cucchiara AJ, DeMarco S, Tournier B, et al. (2001). Cyclooxygenase inhibitors and the antiplatelet effects of aspirin. *N Engl J Med* (2001); 345:1809-17
- Censarek P, Friedel K, Udelhoven M, Ku SJ, Hohlfeld T, Meyer-Kirchrath J, et al (2004). Cyclooxygenase COX-2a, a novel COX-2 mRNA variant, in platelets from patients after coronary artery bypass grafting. *Thromb Haemost* (2004); 92:925-8
- Cerbone AM, Macarone-Palmieri N, Saldalamacchia G, Coppola A, Minno G, Di Rivellesse AA (2008). Diabetes, vascular complications and antiplatelet therapy: open

problems. Received: 12 February 2008/ Accepted: 30 October 2008. *Springer-Verlag* 2008

- Cerskus AL, Ali M, Davies BJ, McDonald JW (1980). Possible significance of small numbers of functional platelets in a population of aspirin-treated platelets in vitro and in vivo. *Thromb Res* 18(3-4): 389-397
- Chertow, G.M., Lazarus, J.M., Christiansen, C.L., Cook, E.F., Hammermeister, K.E. (1997). Preoperative renal risk stratification. *Circulation* (1995) (4), 878-884
- Cipollone F, Patrignani P, Greco A, Panara MR, Padovano R, Cuccurullo F, Patrono C, Rebuszi AG, Liuzzo G, Quaranta G, Maseri A (1997). Differential suppression of thromboxane biosynthesis by indobufen and aspirin in patients with unstable angina. *Circulation* (1996) (4): 1109-1116
- Colwell JA, Nesto RW. The platelet in diabetes: focus on prevention of ischemic events. *Diabetes care*. 2003;26(7):2181-2188.
- Cotter G, Shemesh E, Zehavi M, Dinur I, Rudnick A, Milo O, Vered Z, Krakover R, Kaluski E, Kornberg A (2004) Lack of aspirin effect: aspirin resistance or resistance to taking aspirin? *Am Heart J* 147(2): 293-300
- Craven LL. "Coronary thrombosis can be prevented". *J Insur Med*. 1950 Sep-Nov; 5(4):47-8.
- Creager MA, Luscher TF, Cosentino F, Beckman JA. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: Part I. *Circulation*. (2003); 108(12):1527-1532
- Cullen L, Kelly L, Connor SO, Fitzgerald DJ (1998). Selective cyclooxygenase-2 inhibition by nimesulide in man. *J Pharmacol Exp Ther* 287(2): 578-582
- CURE-Studie: neue Indikation für den Thrombozytenaggregationshemmer Statine zusätzlich zu Aspirin. *Mediknowledge*. Suchkatalog.

D

- Dale GL (1997). Platelet kinetics. *Curr Opin Hematol* 4(5): 330-334
- Davi G, Belvedere M, Vigneri S, Catalano I, Giammarresi C, Roccaforte S, Consoli A, Mezzetti A (1996). Influence of metabolic control on thromboxane biosynthesis and plasma plasminogen activator inhibitor type-1 in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Thromb Haemost* 76:34-37

- Deeb RS, Hao G, Gross SS, Laine M, Qiu JH, Resnick B, et al. (2006). Heme catalyzes tyrosine 385 nitration and inactivation of prostaglandin H2 synthase-1 by peroxynitrite. *J Lipid Res* (2006); 47:898-911
- Delanty N, Reilly MP, Pratico D, Lawson JA, McCarthy JF, Wood AE, Ohnishi ST, Fitzgerald DJ, FitzGerald GA. 8-epi PGF2 alpha generation during coronary reperfusion. A potential quantitative marker of oxidant stress in vivo. *Circulation* (1997); 95: 2492-2499
- Deut FT, Huang JS (1984). Platelet derivate grow factor. *J Clin Invest* 74:669
- DeWitt DL, el-Harith EA, Kraemer SA, Andrews MJ, Yao EF, Armstrong RL, Smith WL (1990). The aspirin and heme-binding sites of ovine and murine prostaglandin endoperoxide synthases. *J Biol Chem* 265(9): 5192-5198
- Dutch TIA Trial Study Group (1991). A comparison of two doses of aspirin (30 mg vs. 283 mg a day) in patients after a transient ischemic attack or minor ischemic stroke. *N Engl J Med* 325(18): 1261-1266.

E

- Eikelboom JW, Hankey GJ (2003) Aspirin resistance: a new independent predictor of vascular events? *J Am Coll Cardiol* 41(6): 966-968
- Ennker J., Bauer S., Konertz W. Herzchirurgie. Checklisten der aktuellen Medizin begründet von F. Largiader, A. Stzrm, O. Wicki. *Thieme*
- Epstein AE, Brigger JT Jr, Wyse DG, Romhilt DW, Reynolds-Haertle RA, Hallstrom A (1991). Events in the cardiac arrhythmia suppression trial (CAST) –mortality in the entire population entrolled. *J Am Coll Cardiol* (1991); 18:14-19
- ESPS-Group: European Stroke Prevention Study. *Stroke* 1990; 21:1122-1130

F

- Farrell B, Godwin J, Richards S, Warlow C (1991). The United Kingdom transient ischaemic attack (UK-TIA) aspirin trial: final results. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 54(12):1044-1054
- Feher G, Feher A, Pusch G, Lupkovics G, Szapary L, Papp E (2009). The genetics of antiplatelet drug resistance. *Clin Genet.* (2009) Jan;75(1):1-18. Epub 2008 Nov 29
- Ferrari E, Benhamou M, Cerboni P, Marcel B (2005) Coronary syndromes following aspirin with drawal: a special risk for late stent thrombosis. *J Am Coll Cardiol* 45(3): 456-459

- Ferraris V.A, Ferraris S.P, Moliterno D.J, Camp P, Walenga J.M, Messmore H.L, Jeske W.P, Edwards F.H, Royston D, Shahian D.M, Peterson E, Bridges C.R, Despotis G. (2005). The Society of Thoracic Surgeons Practice Guideline Series: Aspirin and Other Antiplatelet Agents During Operative Coronary Revascularization (Executive Summary). *Ann Thorac Surg* (2005); 79:1454-61
- Ferroni P, Basili S, Falco A, Davi G. Platelet activation in type 2 diabetes mellitus. *J Thromb Haemost.* (2004);2(8):1282-1291
- FitzGerald GA (2003). Parsing an enigma: the pharmacodynamics of aspirin resistance. *Lancet* 361(9357): 542-544
- FitzGerald GA (1991). Mechanisms of platelet activation: thromboxane A₂ as an amplifying signal for other agonists. *Am J Cardiol* 68(7): 11B-15B
- FitzGerald GA, Oates JA, Hawiger J, Maas RL, Roberts LJ 2nd, Lawson JA, Brash AR (1983a). Endogenous biosynthesis of prostacyclin and thromboxane and platelet function during chronic administration of aspirin in man. *J Clin Invest* 71(3): 676-688
- FitzGerald GA, Pedersen AK, Patrono C (1983b). Analysis of prostacyclin and thromboxane biosynthesis in cardiovascular disease. *Circulation* 67(6): 1174-1177
- Fu JY, Masferrer JL, Seibert K, Raz A, Needleman P (1990). The induction and suppression of prostaglandin H₂ synthase (cyclooxygenase) in human monocytes. *J Biol Chem* 265(28): 16737-16740

G

- García Rodríguez LA, Hernández-Díaz S, de Abajo FJ (2001). Association between aspirin and upper gastrointestinal complications: systematic review of epidemiologic studies. *Br J Clin Pharmacol* 52(5): 563-571
- Gawaz M (2001). Blood platelets: physiology, pathophysiology, membrane receptors, antiplatelet principles, and therapy for atherothrombotic diseases. *Georg Thieme Verlag, Stuttgart*
- Gawaz M, Langer H, May AE (2005). Platelets in inflammation and atherogenesis. *J Clin Invest* 115(12): 3378-3384
- Gent, M., et al. CAPRIE = Statine versus Aspirin in Patients at Risk of Ischaemic Events. *Lancet* 1996, 348, 1329

- Gladding PA, Webster MW, Farrell HB, Zeng IS, Park R, Ruijne N (2008) The antiplatelet effect of six non-steroidal anti-inflammatory drugs and their pharmacodynamic interaction with aspirin in healthy volunteers. *Am J Cardiol* 101(7): 1060-1063
- Grottemeyer KH, Scharafinski HW, Husstedt IW (1993). Two-year follow-up of aspirin responder and aspirin non responder. A pilot-study including 180 post-stroke patients. *Thromb Res* 71(5): 397-403
- Golanski J, Golanski R, Chizynski K, Iwaszkiewicz A, Rozalski M, Wieclawska B, Boncler M, Watala C. Platelet hyperreactivity after coronary artery bypass grafting: the possible relevance to glycoprotein polymorphisms. A preliminary report. *Platelets* (2001); 12: 241-247
- Goldman S, Copeland J, Moritz T, Henderson W, Zadina K, Ovitt T, Doherty J, Read R, Chesler E, Sako Y, et al. (1988). Improvement in early saphenous vein graft patency after coronary artery bypass surgery with antiplatelet therapy: results of a Veterans Administration Cooperative Study. *Circulation* 77(6): 1324-1332
- Grotemyer Karl-Heinz.,Thrombozytenfunktion bei neurologischen Erkrankungen. Laborchemische und klinische Untersuchungen“. *Springer-Verlag*
- Gulba Dietrich C. Thrombolyse und antithrombotische Therapie in der Kardiologie. *Thieme*
- Gum P, Kottke-Marchant K, Welsh P, White J (2003). A Prospective, Blinded Determination of the Natural History of Aspirin Resistance Among Stable Patients With Cardiovascular Disease. *JACC* Vol. 41, No.6, 2003, March 19, 2003: 961-5
- Gum PA, Kottke-Marchant K, Welsh PA, White J, Topol EJ (2003) A prospective, blinded determination of the natural history of aspirin resistance among stable patients with cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol* 41(6): 961-965 [Erratum (2006), *J Am Coll Cardiol* 48(9): 1918]
- Gurbel PA, Bliden KP, DiChiara J, Newcomer J, Weng W, Neerchal NK, Gesheff T, Chaganti SK, Etherington A, Tantry US (2007b) Evaluation of dose-related effects of aspirin on platelet function: results from the Aspirin-Induced Platelet Effect (ASPECT) study. *Circulation* 115(25): 3156-3164

H

- Halushka MK, Walker LP, Halushka PV (2003). Genetic variation in cyclooxygenase 1:effects on response to aspirin. *Clin Pharmacol Ther* (2003); 73:122-30

- Hamberg M, Svensson J, Samuelsson B (1975). Thromboxanes: a new group of biologically active compounds derived from prostaglandin endoperoxides. *Proc Natl Acad Sci USA* 72(8): 2994-2998
- Hamsten A, Svensson J, Walldius G, Szamosi A, de Faire U (1985). Shortened megakaryocyte-platelet regeneration time in young survivors of myocardial infarction. *Am Heart J* 110(6): 1154-1160
- Hankey GJ, Eikelboom JW. Aspirin resistance. *Lancet* (2006); 367: 606-617.
- Hansson L, Zanchetti A, Carruthers (1998). Effect of intensive blood pressure lowering and low-dose aspirin in patients with hypertension-principal results of the hypertension optimal treatment (HOT) randomised trial. *Lancet* (1998); 351:1755-1762
- Harris RC, McKanna JA, Akai Y, Jacobson HR, Dubois RN, Breyer MD (1994). Cyclooxygenase-2 is associated with the macula densa of rat kidney and increases with salt restriction. *J Clin Invest* 94(6): 2504-2510
- Harrison P, Frelinger AL 3rd, Furman MI, Michelson AD (2007) Measuring antiplatelet drug effects in the laboratory. *Thromb Res* 120(3): 323-336
- Helgason CM, Hoff JA, Kondos GT, Brace LD (1993a). Platelet aggregation in patients with atrial fibrillation taking aspirin or warfarin. *Stroke* 24(10): 1458-1461
- Helgason CM, Tortorice KL, Winkler SR, Penney DW, Schuler JJ, McClelland TJ, Brace LD (1993b). Aspirin response and failure in cerebral infarction. *Stroke* 24(3): 345-350
- Helgason CM, Bolin KM, Hoff JA, Winkler SR, Mangat A, Tortorice KL, Brace LD (1994). Development of aspirin resistance in persons with previous ischemic stroke. *Stroke* 25(12): 2331-2336
- Hennekens CH (2002). Update on aspirin in the treatment and prevention of cardiovascular disease. *Am J Manag Care* (2002); 8 (Suppl): 691-700
- Hobson A, Qureshi Z, Banks F, Curzen N. (2009). Effects of clopidogrel on aspirin specific pathways of platelet inhibition. *Platelets*. Manuscript ID: CPLA-2009-0004
- Hohlfeld Thomas (2006). Aspirin-Resistenz/Aspirin resistance. *LaboratoriumsMedizin*. Band 30, Heft 5, Seiten 302-309
- Hohlfeld T., Zimmermann N, Weber A.-A., G. Jessen et al. (2008). Pyrazolinone analgesics prevent the antiplatelet effect of aspirin and preserve human platelet thromboxane synthesis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 6: 166-173

- Holmsen, H (1977). Prostaglandin endoperoxid- thromboxan synthesis and dense granule secretion as positive feedback loops in the propagation for platelet responses during the “basic platelet reaction“. *Thromb Haemost* 38: 1030
- Holmsen H, Weiss H (1979) Secretable storage pools in platelets. *Ann. Rev. Med.*(1979). 30:119-34
- Howard PA (2002). Aspirin resistance. *Ann Pharmacother.* 36(10):1620-1624

I

- Iakovou I, Schmidt T, Bonizzoni E, Ge L, Sangiorgi GM, Stankovic G, Airolidi F, Chieffo A, Montorfano M, Carlino M, Michev I, Corvaja N, Briguori C, Gerckens U, Grube E, Colombo A (2005) Incidence, predictors, and outcome of thrombosis after successful implantation of drug-eluting stents. *JAMA* 293(17): 2126-2130
- Ichiki K, Ikeda H, Haramaki N, Ueno T, Imaizumi T. 1996). Long term smoking impairs platelet derived nitric oxide release. *Circulation.* 1996; 94: 3109-3114
- International Stroke Trial Collaborativ Group (1997). The international Stroke Trial (IST) –a randomised trial of aspirin, subcutaneous heparin, both, or neither among 19435 patients with acute ischaemic stroke. *Lancet* (1997); 349:1569-1581
- ISIS-2- Collaborative Group: Randomised trial of intravenous streptokinase, oral aspirin, both, or neither 17187 cases of suspected acute myocardial infarction. *Lancet* (1998); 11:349-360

J

- Jaffe EA, Weksler BB (1979). Recovery of endothelial cell prostacyclin production after inhibition by low doses of aspirin. *J Clin Invest* 63(3): 532-535
- Jefferson BK, Foster JH, McCarthy JJ, Ginsburg G, Parker A, Kottke-Marchant K, et al. (2005). Aspirin resistance and a single gene. *Am J; Cardiol* 2005; 95:805-8
- Juul-Möller S, Edvardsson N, Jahnmatz B, Rosén A, Sørensen S, Omblus R (1992). Doubleblind trial of aspirin in primary prevention of myocardial infarction in patients with stable chronic angina pectoris. The Swedish Angina Pectoris Aspirin Trial (SAPAT) Group. *Lancet* 340(8833): 1421-1425

K

- Kamran Muhammad, Ahmed Ali, Iqbal Mudassir, Khan Abdul Bari (2008). Effect of Aspirin on Postoperative Bleeding in Coronary Artery Bypass Grafting. *ANN Thorac Cardiovasc Surg* Vol. 14, No.4 (2008):224-229

- Kawasaki T, Ozeki Y, Igawa T, Kambayashi J. Increased platelet sensitivity to collagen in individuals resistant to low-dose aspirin. *Stroke* (2000); 31: 591-595.
- Kayacioglu I, Gunay R, Saskin H, Idiz M, Sensoz Y, Ates M, Tangurek B, Alper AT, Demirtas MM, Yekeler I (2008). The role of clopidogrel and acetylsalicylic acid in the prevention of early-phase graft occlusion due to reactive thrombocytosis after coronary artery bypass operation. *Heart Surg Forum*. (2008);11(3):E152-7
- Kim Un-Hir, Dissertation. Hemmung von Funktion und Thromboxansynthese "ASS-resistenter" Thrombozyten durch ausgewählte Cyclooxygenase-Inhibitoren. (2007). Betreuer Prof. Dr. Thomas Hohlfeld
- Kitamura R, Hirakata H, Okuda H, Sato M, Toda H, Nakamura K, Hatano Y, Urabe N, Fukuda K. Thiopental enhances human platelet aggregation by increasing arachidonic acid release. *Can J Physiol Pharmacol* (2001); 79: 854-860.
- Knapp HR, Healy C, Lawson J, FitzGerald GA (1988). Effects of low-dose aspirin on endogenous eicosanoid formation in normal and atherosclerotic men. *Thromb Res* 50(3): 377-386
- Krasopoulos George, Brister Stephanie J, Beattie Scott W, Buchanan Michael R (2008). Aspirin „resistance“and risk of cardiovascular morbidity: systematic review and meta-analysis. *BMJ* (2008); 336:195-198 (26 January).
- Kurth T, Glynn RJ, Walker AM, Chan KA, Buring JE, Hennekens CH, Gaziano JM (2003) Inhibition of clinical benefits of aspirin on first myocardial infarction by nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Circulation* 108(10): 1191-1195
- Kujubu DA, Fletcher BS, Varnum BC, Lim RW, Herschman HR (1991). TIS10, a phorbol ester tumor promoter-inducible mRNA from Swiss 3T3 cells, encodes a novel prostaglandin synthase/cyclooxygenase homologue. *J Biol Chem* 266(20): 12866- 12872
- Küster LJ, Frölich JC (1986). Platelet aggregation and thromboxane release induced by arachidonic acid, collagen, ADP and platelet- activating factor following low dose acetylsalicylic acid in man. *Prostaglandins* 32(3): 415-423

L

- Lahat N, Zlotnick AY, Shtiller R, Bar I, Merin G. Serum levels of IL-1, IL-6 and tumour necrosis factors in patients undergoing coronary artery bypass grafts or cholecystectomy. *Clin Exp Immunol* 1992; 89: 255-260

- Lau WC, Gurbel PA, Watkins PB et al. (2004). Contribution of hepatic cytochrome P450 3A4 metabolic activity to the phenomenon of Statine resistance. *Circulation* (2004);109:166-171
- Lau WC, Waskell LA, Watkins PB et al (2003). Atrovastatin reduced the ability of Statine to inhibit platelet activation: a new drug-drug interaction. *Circulation* 107:32-37
- Lev EI, Patel RT, Guthikonda S, Lopez D, Bray PF, Kleiman NS (2007). Genetic polymorphisms of the platelet receptors P2Y(12), P2Y(1) and GP IIIa and response to aspirin and Statine. *Thromb Res.* 2007;119(3):355-60. Epub 2006 Mar 6
- Lev EI, Patel RT, Maresh KJ, et al. Aspirin and clopidogrel drug response in patient undergoing percutaneous coronary intervention: the role of dual drug resistance. *J Am Coll Cardiol.* (2006); 47:27-33
- Lim E, Ali Z, Ali A, Routledge T, Edmonds L, Altman DG, Large S. (2003). Indirect comparison meta-analysis of aspirin therapy after coronary surgery. *BMJ* (2003); 327: 1-5
- Livio M, Del Maschio A, Cerletti C, de Gaetano G (1982). Indomethacin prevents the longlasting inhibitory effect of aspirin on human platelet cyclo-oxygenase activity. *Prostaglandins* 23(6): 787-796
- Loll PJ, Picot D, Garavito RM (1995). The structural basis of aspirin activity inferred from the crystal structure of inactivated prostaglandin H2 synthase. *Nat Struct Biol* 2(8): 637-643
- Lorenz RL, Schacky CV, Weber M, Meister W, Kotzur J, Reichardt B, Theisen K, Weber PC (1984). Improved aortocoronary bypass patency by low-dose aspirin (100 mg daily). Effects on platelet aggregation and thromboxane formation. *Lancet* 1(8389): 1261-1264

M

- Macchi L, Christiaens L, Brabant S, Sorel N, Allal J, Mauco G, et al. (2002). Resistance to aspirin in vitro is associated with increased platelet sensitivity to adenosine diphosphate. *Thromb Res* (2002); 107:45-9
- MacDonald TM, Wei L (2003). Effect of ibuprofen on cardioprotective effect of aspirin. *Lancet* 361(9357): 573-574

- Mancini JA, Riendeau D, Falgout JP, Vickers PJ, O'Neill GP (1995). Arginine 120 of prostaglandin G/H synthase-1 is required for the inhibition by nonsteroidal antiinflammatory drugs containing a carboxylic acid moiety. *J Biol Chem* 270(49): 29372-29377
- Maree AO, Curtin RJ, Chubb A, Dolan C, Cox D, O'Brien J, Crean P, Shields DC, Fitzgerald DJ (2005). Cyclooxygenase-1 haplotype modulates platelet response to aspirin. *J Thromb Haemost* 3(10): 2340-2345
- Maree AO, Curtin RJ, Dooley M, Conroy RM, Crean P, Cox D, Fitzgerald DJ (2005) Platelet response to low-dose enteric-coated aspirin in patients with stable cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol* 46(7): 1258-1263
- Markwardt Fritz und Vogel Günter. Medikamentöse Beeinflussung der Thrombozytenfunktion .Akademie-Verlag-Berlin
- Martin E., Fleischner F. (Hrsg.). Perioperative Gerinnungsstörungen. Diagnostik und Therapie. Springer-Verlag
- Mason PJ, Jacobs AK, Freedman JE (2005). Aspirin resistance and atherothrombotic disease. *J Am Coll Cardiol*; 46:986–93.
- Masferrer JL, Zweifel BS, Seibert K, Needleman P (1990). Selective regulation of cellular cyclooxygenase by dexamethasone and endotoxin in mice. *J Clin Invest* 86(4): 1375-1379
- McAdam BF, Catella Lawson F, Mardini IA, Kapoor S, Lawson JA, FitzGerald GA (1999). Systemic biosynthesis of prostacyclin by cyclooxygenase (COX)-2: the human pharmacology of a selective inhibitor of COX-2. *Proc Natl Acad Sci USA* 96(1): 272-277 [Erratum (1999), *Proc Natl Acad Sci USA* 96(10): 5890]
- McKee SA, Sane DC, Deliargyris EN (2002). Aspirin resistance in cardiovascular disease: a review of prevalence, mechanisms, and clinical significance. *Thromb Haemost* (88):711–5
- Mehta SR, Yusuf S, Peters RJ, Bertrand ME, Lewis BS, Natarajan MK, Malmberg K, Rupprecht H, Zhao F, Chrolavicius S, Copland I, Fox KA (2001). Statine in Unstable angina to prevent Recurrent Events trial (CURE) Investigators. Effects of pretreatment with Statine and aspirin followed by long-term therapy in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the PCI-CURE study. *Lancet*. (2001) Aug 18;358(9281):527-33

- Michelson AD, Cattaneo M, Eikelboom JW, Gurbel P, Kottke-Marchant K, Kunicki TJ, Pulcinelli FM, Cerletti C, Rao AK; Platelet Physiology Subcommittee of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis; Working Group on Aspirin Resistance (2005) Aspirin resistance: position paper of the Working Group on Aspirin Resistance. *J Thromb Haemost* 3(6)1309-1311
- Mitchell JA, Belvisi M G, Akarasereenont P, Robbins R A, Kwon O J, Croxtall J, Barnes P J, and Vane J R. Induction of cyclo-oxygenase-2 by cytokines in human pulmonary epithelial cells: regulation by dexamethasone. *BJP-British Journal of pharmacology* (1994), Nov. 133(3): 1008-14
- Moake JL, Turner NA, Stathopoulos NA, Nolasco L, Hellums JD /1988). Shear-induced platelet aggregation can be mediated by vWF released from platelets, as well as by exogenous large or unusually large vWF multimers, requires adenosine diphosphate, and is resistant to aspirin. *Blood* (1988); 71: 1366-1374
- Moffat KA, Ledford-Kraemer MR, Nichols WL, Hayward CP (2005) Variability in clinical laboratory practice in testing for disorders of platelet function: results of two surveys of the North American Specialized Coagulation Laboratory Association. *Thromb Haemost* 93(3): 549-553
- Mohr, R., Moshkovitch, Y., Shapira, I., Amir, G., Hod, H. and Gurevitch, J. (1999). Coronary artery bypass without cardiopulmonary bypass for patient with acute myocardial infarction. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 188 (1), 50-56
- Moncada S, Vane JR (1979). Arachidonic acid metabolites and the interactions between platelets and blood-vessel walls. *N Engl J Med* 300(20): 1142-1147
- Morrow JD, Hill KE, Burk RF, Nammour TM, Badr KF, Roberts LJ 2nd. A series of prostaglandin F₂-like compounds are produced in vivo in humans by a non-cyclooxygenase, free radical-catalyzed mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 9383-9387
- Motwani JG, Topol EJ. Aortocoronary saphenous vein graft disease. Pathogenesis, predisposition, and prevention. *Circulation* (1998); 97: 916-931

N

- Neubauer H, Günesdogan B, Hanefeld C, Spiecker M, Mügge A (2003). Lipophilic statins interfere with the inhibitory effects of Statine on platelet function-a flow cytometry study. *Eur Heart J.* (2003) Oct;24(19):1744-9
- Ng, C.S., Wan, S., Yim, A.P. and Arifi, A.A. (2002). Pulmonary dysfunction after cardiac surgery. *Chest* 121 (4), 1269-1277
- Nicolsen GL (1976). Trans-membrane control of the receptors on normal and tumor cells II. Surface change associated with transformation and malignancy. *Biochem Biophys Acta* 458:1

O

- O'Banion MK, Sadowski HB, Winn V, Young DA (1991). A serum- and glucocorticoidregulated 4-kilobase mRNA encodes a cyclooxygenase-related protein. *J Biol Chem* 266(34): 23261-23267
- O'Brien JR (1968). Effects of salicylates on human platelets. *Lancet* 1(7546): 779-783
- Okrainec K, Platt R, Pilote L, Eisenberg MJ. Cardiac medical therapy in patients after coronary artery bypass graft surgery: a review of randomized controlled trials. *J Am Coll Cardiol* (2005); 45: 177-184.

P

- Patrono C, Ciabattini G, Patrignani P, Pugliese F, Filabozzi P, Catella F, Davì G, Forni L (1985). Clinical pharmacology of platelet cyclooxygenase inhibition. *Circulation* 72(6):1177-1184
- Pamukcu B, Oflaz H, Onur I, Oncul A, Ozcan M, Umman B, Mercanoglu F, Meric M, Nisanci Y. (2007). Clinical relevance of aspirin resistance in patients with stable coronary artery disease: a prospective follow-up study (PROSPECTAR). *Blood Coagul Fibrinolysis.* (2007) Mar;18(2):187-92
- Patrono C, Bachmann F, Baigent C, Bode C, De Caterina R, Charbonnier B, Fitzgerald D, Hirsh J, Husted S, Kvasnicka J, Montalescot G, García Rodríguez LA, Verheugt F, Vermylen J, Wallentin L, Priori SG, Alonso Garcia MA, Blanc JJ, Budaj A, Cowie M, Dean V, Deckers J, Fernández Burgos E, Lekakis J, Lindahl B, Mazzotta G, Morais J, Oto A, Smiseth OA, Morais J, Deckers J, Ferreira R, Mazzotta G, Steg PG, Teixeira F, Wilcox R; European Society of Cardiology (2004a) Expert consensus document on the use of antiplatelet agents. *Eur Heart J* 25(2): 166-181

- Patrono C, Collier B, FitzGerald GA, Hirsh J, Roth G (2004b). Platelet-active drugs: the relationships among dose, effectiveness, and side effects: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest* 126 (Suppl 3): 234S-264S
- Patrono C, García Rodríguez LA, Landolfi R, Baigent C (2005). Low-dose aspirin for the prevention of atherothrombosis. *N Engl J Med* 353(22): 2373-2383
- Pedersen AK, FitzGerald GA. Dose-related kinetics of aspirin. Presystemic acetylation of platelet cyclooxygenase. *N Engl J Med.* (1984) Nov 8;311(19):1206-11.
- Peters AJ, Borries M, Gradaus F, Jax TW, Schoebel FC, Strauer BE (2001). In vitro bleeding test with PFA-100-aspects of controlling individual acetylsalicylic acid induced platelet inhibition in patients with cardiovascular disease. *J Thromb Thrombolysis* 12(3): 263-272
- Perneby C, Wallen NH, Rooney C, FitzGerald D, Hjendahl P (2006). Dose- and time-dependent antiplatelet effects of aspirin. *Thromb Haemost* (2006); 95:652-8
- Practico D, Lawson JA, FitzGerald GA. Cyclooxygenase-dependent formation of the isoprostane, 8-epi prostaglandin F2 alpha. *J Biol Chem* (1995); 270: 9800-9808
- Pulcinelli FM, Riondino S (2006) More on aspirin resistance: position paper of the Working Group on Aspirin Resistance. Proposal for a Laboratory Test Guiding Algorithm. *J Thromb Haemost* 4(2): 485-487

R

- Renda G, Tacconelli S, Capone ML, Sacchetta D, Santarelli F, Sciulli MG, Zimarino M, Grana M, D'Amelio E, Zurro M, Price TS, Patrono C, De Caterina R, Patrignani P (2006) Celecoxib, ibuprofen, and the antiplatelet effect of aspirin in patients with osteoarthritis and ischemic heart disease. *Clin Pharmacol Ther* 80(3): 264-274
- Ridker PM, Cook NR, Lee IM, Gordon D, Gaziano JM, Manson JE, Hennekens CH, Buring JE (2005) A randomized trial of low-dose aspirin in the primary prevention of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* 352(13): 1293-1304
- RISC Group (1990). Risk of myocardial infarction and death during treatment with low dose aspirin and intravenous heparin in men with unstable coronary artery disease. *Lancet* 336(8719): 827-830
- Robbins JC, Nicolson GK (1975). Surface of normal and transformed cells. In: *Becker FF (ed) Cancer. Plenum Press, New York*, p 225

- Rocca B, Secchiero P, Ciabattoni G, Ranelletti FO, Catani L, Guidotti L, et al. COX-2 expression is induced during human megakaryopoiesis and characterizes newly formed platelets. *Proc Natl Acad Sci USA* (2002); 99:7634-9
- Roller RE, Dorr A, Ulrich S, Pilger E. Effect of aspirin treatment in patients with peripheral arterial disease monitored with the platelet function analyser PFA-100. *Blood Coagul Fibrinolysis*. (2002); 13:277-281
- Ross R (1999). Atherosclerosis an inflammatory disease. *N Engl J Med* 340(2): 115-126
- Roth GJ, Majerus PW (1975). The mechanism of the effect of aspirin on human platelets. I. Acetylation of a particulate fraction protein. *J Clin Invest* 56(3): 624-632
- Roux S, Christeller S, Lüdin E (1992). Effects of aspirin on coronary reocclusion and recurrent ischemia after thrombolysis: a meta-analysis. *J Am Coll Cardiol* (1992); 19:671-677
- Ruggeri ZM (2002). Platelets in atherothrombosis. *Nat Med* 8(11): 1227-1234

S

- SALT Collaborative Group (1991). Swedish Aspirin Low-Dose Trial (SALT) of 75 mg aspirin as secondary prophylaxis after cerebrovascular ischaemic events. *Lancet* 338(8779):1345-1349
- Sanderson S, Emery J, Baglin T, Kinmonth AL. Narrative review: aspirin resistance and its clinical implications. *Ann Intern Med*. (2005); 142:370-380
- Seelig P, Schranz P, Stauch T (2007). Statine- und Aspirin-Resistenz. *Laborinformation*. Labor Prof. Seelig und Kollegen
- Schmid G .Leitfaden. Erwachsenenherzchirurgie. *Steinkopf. Darmstad*.
- Schulze C, Conrad N, Schutz A, Egi K, Reichenspurner H, Reichart B, Wildhirt SM (2000). Reduced expression of systemic proinflammatory cytokines after off-pump versus conventional coronary artery bypass grafting. *Thorac Cardiovasc Surg* (2000); 48: 364-369
- Schrör K (1992). Acetylsalicylsäure. *Georg Thieme Verlag, Stuttgart*
- Schrör K, Hohlfeld T (2005). Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie. Derivate des Arachidonsäurestoffwechsels. 9. Auflage, *Urban und Fischer Verlag, München*, Kapitel 15, S. 356

- Schwartz KA, Schwartz DE, Ghosheh K, Reeves MJ, Barber K, DeFranco A (2005) Compliance as a critical consideration in patients who appear to be resistant to aspirin after healing of myocardial infarction. *Am J Cardiol* 95(8): 973-975
- Schwartz KA, Schwartz DE, Barber K, Reeves M, De Franco AC (2008). Non-Compliance is the predo coronary arterial disease patients. *J Transl Med* (2008); 6:46
- Sibbing D et al. (2006). Diabetes mellitus and platelet function after administration of aspirin and a single 600mg dose of Statine. *J Thromb Haemost* 4:2566-2568
- Sirois J, Richards JS (1992). Purification and characterization of a novel, distinct isoform of prostaglandin endoperoxide synthase induced by human chorionic gonadotropin in granulosa cells of rat preovulatory follicles. *J Biol Chem* 267(9): 6382-6388
- Smith JB, Willis AL. Aspirin selectively inhibits prostaglandin production in human platelets. *Nat New Biol.* 1971 Jun 23;231(25):235-237
- Smith WL, Garavito RM, DeWitt DL (1996). Prostaglandin endoperoxide H synthases (cyclooxygenases)-1 and -2. *J Biol Chem* 271(52): 33157-33160
- Strüber M, Cremer JT, Gohrbandt B, Hagl C, Jankowski M, Volker B, Ruckoldt H, Martin M, Haverich A (1999) Human cytokine responses to coronary artery bypass grafting with and without cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* (1999); 68: 1330-1335
- Svenstrup Poulsen T, Kristensen S.R, Atar D, Mickley H. Das Phänomen der Aspirin-Resistenz: eine kritische Beurteilung der vorliegenden Evidenz. *Kardiovaskuläre Medizin* (2005); 8: 346360
- Syrbe G, Redlich H, Weidlich B, Ludwig J, Kopitzsch S, Göckefitz A, Herzog T. Individual dosing of ASA prophylaxis by controlling platelet aggregation. *Clin Appl Thromb Hemost.* (2001) Jul;7(3):209-13

T

- Tafreshi MJ, Zagnoni LG, Gentry EJ (2006). Combination of Statine and statins: a hypothetical interaction or therapeutic dilemma? *Pharmacotherapy.* (2006) Mar;26(3):388-94
- Taylor DW, Barnett HJ, Haynes RB, Ferguson GG, Sackett DL, Thorpe KE, Simard D, Silver FL, Hachinski V, Clagett GP, Barnes R, Spence JD (1999). Low-dose and highdose acetylsalicylic acid for patients undergoing carotid endarterectomy: a randomised controlled trial. ASA and Carotid Endarterectomy (ACE) Trial Collaborators. *Lancet* 353(9171): 2179-2184

- Tseeng S and Arora R. (2008). Aspirin Resistance: Biological and Clinical Implications. *J of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*. 13;5
- TIMAD Study Group (1990). Ticlopidine treatment reduces the progression of non proliferative diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol* 108:1577-1583
- Topol EJ, Easton D, Harrington RA, Amarenco P, Califf RM, Graffagnino C, Davis S, Diener HC, Ferguson J, Fitzgerald D, Granett J, Shuaib A, Koudstaal PJ, Theroux P, Van de Werf F, Sigmon K, Pieper K, Vallee M, Willerson JT; “Blockade of the Glycoprotein IIb/IIIa Receptor to Avoid Vascular Occlusion Trial Investigators. Randomized, double-blind, placebo-controlled, international trial of the oral IIb/IIIa antagonist lotrafiban in coronary and cerebrovascular disease”. *Circulation*(2003); 108: 399-406
- Topper JN, Cai J, Falb D, Gimbrone MA Jr (1996). Identification of vascular endothelial genes differentially responsive to fluid mechanical stimuli: cyclooxygenase-2, manganese superoxide dismutase, and endothelial cell nitric oxide synthase are selectively up-regulated by steady laminar shear stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 93(19): 10417-10422
- Tschoepe D (1995). The activated megakaryocyte-platelet-system in vascular disease: focus on diabetes. *Semin Thromb Hemost* 21(2): 152-160
- Tschoepe D, Roesen P, WSchwippert B, Gries FA. Platelets in diabetes: the role in the hemostatic regulation in atherosclerosis. *Semin Thromb Haemost.* (1993); 19(2):122-128
- Tschoepe D, Rauch U, Schwippert B. Platelet-leukocyte-cross-talk in diabetes mellitus. *Horm Metab Res.* (1997); 29(12):631-635

V

- Vesterqvist O (1986). Rapid recovery of in vivo prostacyclin formation after inhibition by aspirin. Evidence from measurements of the major urinary metabolite of prostacyclin by GC-MS. *Eur J Clin Pharmacol* 30(1): 69-73
- Vlassov, G .P., Deyneka, C.S., Travine, N.O., Timerbaev, V.H. and Ermolov, A.S. (2001). Acute myocardial infarction: OPCAB is an alternative approach for treatment. *Heart Surg Forum.* 4 (2), 147-150

W

- Wahlers Thorsten, Wittwer Thorsten „Herzchirurgischer OP-Atlas“. Jena.
- Weber AA, Przytulski B, Schanz A, Hohlfeld T, Schrör K (2002). Towards a definition of aspirin resistance: a typological approach. *Platelets* 13: 37-40

- Weber AA, Zimmermann K, Meyer-Kirchrath J, Schrör K (1999). COX-2 human platelets as a possible factor in aspirin resistance. *Lancet* (1999); 353:900
- Wenk Angela Christine et al. (2006). Thrombozytäre Funktion und Thromboxansynthese nach koronarer Bypassoperation: Verzögerte Zeitkinetik der Cyclooxygenasehemmung durch Acetylsalicylsäure. Dissertation. Institut für Pharmakologie und Klinische Pharmakologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.
- Wiedmer T, Sims PJ (1991) Participation of protein kinases in complement C5b-9-induced shedding of platelet plasma membrane vesicles. *Blood* 1991; 78: 2880-2886
- Wildhirt SM, Schulze C, Schulz C, Egi K, Brenner P, Mair H, Schutz A, Reichart B (2001) Reduction of systemic and cardiac adhesion molecule expression after off-pump versus conventional coronary artery bypass grafting. *Shock* (2001); 16 (suppl): 55-59
- Wilner KD, Rushing M, Walden C, Adler R, Eskra J, Noveck R, Vargas R (2002) Celecoxib does not affect the antiplatelet activity of aspirin in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol* 42(9): 1027-1030
- Wong S, Appleberg M, Ward CM, Lewis DR. Aspirin resistance in cardiovascular disease: a review. *Eur J Vasc Endovasc Surg* (2004); 27: 456-65
- Wong S, Morel-Kopp MC, Chen Q, Appleberg M, Ward CM, Lewis DR (2006). Overcoming aspirin resistance: Increased platelet inhibition with combination aspirin and Statine and high dose aspirin therapy in aspirin resistant patients with peripheral vascular disease. *Thromb Haemost* (2006); 95:1042-3

X

- Xie WL, Chipman JG, Robertson DL, Erikson RL, Simmons DL (1991). Expression of a mitogen-responsive gene encoding prostaglandin synthase is regulated by mRNA splicing. *Proc Natl Acad Sci USA* 88(7): 2692-2696

Y

- Yamagata K, Andreasson KI, Kaufmann WE, Barnes CA, Worley PF (1993). Expression of a mitogen-inducible cyclooxygenase in brain neurons: regulation by synaptic activity and glucocorticoids. *Neuron* 11(2): 371-386

Z

- Zimmermann N., Hohlfeld T. Grenzen der ASS-Therapie. Ein Referat aus der pharmazeutischen Wissenschaft.

- Zimmermann N, Kienzle P, Weber AA, Winter J, Gams E, Schroer K, Hohlfeld T (2001). Aspirin resistance after coronary artery bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001; 121: 982-984
- Zimmermann N, Wenk A, Kim U, Kienzle P, Weber AA, Games E, et al.(2003). Functional and biochemical evaluation of platelet aspirin resistance after coronary artery bypass surgery. *Cirkulation* (2003); 108:542-7
- Zimmermann N, Kurt M, Winter J, Gams E, Wenzel F, Hohlfeld T (2008). Detection and duration of aspirin resistance after coronary artery bypass grafting. *J of Thoracic and Cardiovascular Surgery* (2008); 135:947-8
- Zylka-Menhorn, Vera (2001). Europäischer Kardiologenkongress:Therapie des akuten Koronarsyndroms in Bewegung. *Dtsch Arztebl* 2001; 98(38):A-2403/ B-2054 /C-1925
- Casati V, Gerli C, Franco A, Della Valle P, Benussi S, Alfieri O, Torri G, D'Angelo A (2001). Activation of coagulation and fibrinolysis during coronary surgery: on-pump versus off-pump techniques. *Anesthesiology* (2001); 95: 1103-1109.

06.04.2004 Medizin in der Kurparkklinik Bad-Liebenstein.
„Gleichwertigkeitsprüfung“ (im Sinne des 3. Staatsexamens)
bei der LÄK-Thüringen, Jena

2008-2009 Promotionsstudium an der Friedrich-Schiller-Universität Jena,
Abteilung für experimentelle Anästhesie und Intensivmedizin
im Forschungszentrum Lobeda

Beruflicher Werdegang

2004-2006 Ärztin in Weiterbildung in dem Helios-Kreiskrankenhaus
Gotha/Ohrdruf in der Klinik für Innere Medizin II

Seit 01.04.2009 Ärztin in Weiterbildung in der Helios Klinik Erfurt, Klinik für
Anästhesie, Intensivmedizin und Schmerztherapie

Interessen und Hobbys:

Spielen von Klavier-, Geige- und Gitarre
Musikinstrumenten:

9.2 Danksagung

Ich möchte mich ganz herzlich bei vielen Menschen, welche mir bei der Anfertigung dieser Doktorarbeit geholfen haben, bedanken.

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. Jan Gummert, Ruhr-Universität Bochum, Herz- und Diabeteszentrum NRW, Klinik für Thorax- und Kardiovaskularchirurgie, für eine wunderbare Idee die ASS-Non-Response bei kardiochirurgischen Patienten seiner ehemaligen Klinik für Herz- und Thoraxchirurgie der FSU Jena zu untersuchen.

Herrn PD Dr. Ralf Alexander Claus, Leiter der Klinik für experimentelle Anästhesie und Intensivmedizin, FZL in Jena danke ich, dass ich meine Studien in seiner Abteilung durchführen konnte und in seinem kollegialen Team arbeiten durfte.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Herrn HD Dr. Wolfgang Lösche, Universitätsklinikum Jena, Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin (FZL), für seine unermüdliche Unterstützung und Betreuung.

Sein außergewöhnliches fachliches Wissen, seine guten Ratschläge sowie Offenheit und Kompetenz haben mir auf jeder Etappe meiner Arbeit sehr geholfen.

Bei dem OA Dr. med. Jochen Börgermann, Klinik für Herz- und Thoraxchirurgie, FSU Jena, jetzt Ruhr-Universität Bochum, Herz- und Diabeteszentrum NRW, Klinik für Thorax- und Kardiovaskularchirurgie, bedanke ich mich für eine sehr gute Organisation der Arbeit auf der herzchirurgischen Station und Vermittlung einer unkomplizierten Zusammenarbeit mit den Stationsärzten und dem Pflegepersonal.

Dem OA Dr. med. Johannes Winning, Klinik für Anästhesie und Intensivmedizin, FSU Jena, danke ich für die Unterstützung bei der klinischen Arbeit auf der Intensivstation.

Mein Dank gilt auch Maik Soßdorf, Wissenschaftlicher Mitarbeiter, welcher mich in die Arbeit eingeführt hat und immer ein offenes Ohr für mich hatte.

Ich möchte mich herzlich bei Frau Brigitte Specht und Frau Edith Walther, unseren lieben MTA's, für die Unterstützung bei Schwierigkeiten im Laboralltag und stets freundliche Atmosphäre während der Arbeit bedanken.

Bei Iris Suckert und Madlen Seidel, welche sich für die Messungen der Blutproben als gesunde Probanden zu Verfügung gestellt haben, möchte ich mich herzlich bedanken.

Katja Dahlke, Markus Bläss, Falk Gonnert, Matthias Sieber und allen anderen Mitarbeitern unserer Abteilung danke ich für eine tolle Zusammenarbeit und aufmunternde Worte.

Allen Kollegen und besonders den Doktoranden, danke ich für oft fröhliche gemeinsame Momente, jegliche Hilfe, sei es durch Gespräche, Tipps oder Ratschläge, welche zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Danken möchte ich auch meiner Familie und Freunden, insbesondere Christina Stützer, für die mentale Unterstützung bei der Fertigstellung der Arbeit.

Mein letzter und größter Dank gilt meinen Eltern, die mir überhaupt ermöglicht haben diese Arbeit durchzuführen und mich während des gesamten Weges unterstützt haben. Meinem kleinen Sohn, Marco Michael, danke ich, dass ich den größten Teil meiner Doktorarbeit im Erziehungsurlaub machen konnte.

9.3 Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: HD. Dr. Wolfgang Lösche, HD. Dr. Ralf Alexander Claus,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Ort, Datum

Unterschrift des Verfassers

