

Aus dem Institut für Pharmakologie und Klinische Pharmakologie der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktor: Herr Prof. Dr. Jens Fischer

**Der Einfluss von Dipyron auf die
thrombozytenhemmende Wirkung von
Acetylsalicylsäure bei Patienten nach ischämischem
Schlaganfall**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine -Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Vladimir Erschoff

2019

Als Inauguraldissertation gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Gez.:

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. med. Thomas Hohlfeld

Zweitgutachter: Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Hans Reinke

Auflistung der Publikationen:

Dannenberg L, Erschoff V, Bönner F, Gliem M, Jander S, Levkau B, Kelm M, Hohlfeld T, Zeus T, Polzin A, 2016, Dipyrrone comedication in aspirin treated stroke patients impairs outcome. Vascular Pharmacology.

Abstract

The present work addresses the question of whether the anti-platelet function of ASA in stroke patients is influenced by dipyron intake and whether this affects the patients' clinical outcome. A negative influence of Dipyron on the ASA effect could already be proven in previous work in CHD patients.

In total, we included 61 patients in three different groups. At the time of inclusion in the study, the patients were on the stroke unit of the University Hospital Düsseldorf. During the inpatient stay, a blood sample was taken after initiation of routine treatment with low-dose ASA. Subsequently, PRP was obtained therefrom and the platelet reactivity in the turbidimetric method according to Born was determined under ARA and collagen stimulation and TXB2 in the supernatant was measured.

Under ARA, all patients who did not receive ASA showed platelet aggregation. In patients receiving only aspirin and no dipyron, 10% showed in the Dipyron group, however, 61.9% aggregation as an expression of insufficient inhibition by low-dose ASA. After addition of ASA in vitro (30 μ M and 100 μ M), an inadequate ASA effect was still present in 30% samples of Dipyron-treated patients. With collagen stimulation, the platelets showed hyperreactivity in all three groups, so these results failed to provide a satisfactory conclusion about a dipyron-ASA interaction.

The TXB2 values were significantly higher in the control group (no ASA) and in the Dipyron group than in the patient group treated with ASA only.

To assess the clinical outcome, the Barthel Index, NIH Score, and mRS were recorded at admission, discharge, and after three months. Dipyron-treated patients showed poorer results in all scoring systems already at the time of admission. Furthermore, these patients also showed the least clinical improvement during the course (discharge and 3-month follow-up). Patients treated with ASA had the least stroke-related impairment after three months.

Overall, this study demonstrates that analgesia with dipyron in patients with ischemic stroke interferes with ASA inhibition. In addition, the results suggest that the hereby impaired ASA therapy negatively affects patients' clinical outcomes.

Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Frage, ob die plättchenhemmende Funktion von ASS bei Patienten nach Schlaganfall durch Dipyronaufnahme beeinflusst wird und ob dies Auswirkungen auf das klinische Outcome der Patienten hat. Ein negativer Einfluss von Dipyron auf die ASS Wirkung konnte bereits in Vorgängerarbeiten bei KHK-Patienten nachgewiesen werden.

Insgesamt wurden 61 Patienten in drei verschiedenen Gruppen von uns eingeschlossen. Die Patienten befanden sich zum Zeitpunkt des Einschlusses in die Studie auf der Stroke-Unit der Universitätsklinik Düsseldorf. Dabei wurde während des stationären Aufenthalts nach Initiierung der routinemäßigen Behandlung mit low-dose ASS eine Blutprobe abgenommen. Anschließend wurde daraus PRP gewonnen und unter ARA- und Kollagenstimulation die Plättchenreaktivität im turbidimetrische Verfahren nach Born bestimmt und TXB₂ im Überstand gemessen.

Unter ARA zeigten alle Patienten, die kein ASS erhalten haben, eine Thrombozytenaggregation. Bei Patienten, die nur ASS und kein Dipyron erhalten haben, zeigten 10%, in der Dipyron Gruppe jedoch 61,9% Aggregation als Ausdruck einer unzureichenden Hemmung durch low-dose ASS. Nach Zugabe von ASS *in-vitro* (30 µM und 100 µM) bestand immer noch bei 30% Proben von Dipyron behandelten Patienten eine insuffiziente ASS Wirkung. Unter Kollagenstimulation zeigten die Thrombozyten in allen drei Gruppen eine Hyperreaktivität, sodass diese Ergebnisse keine befriedigende Aussage über eine Dipyron-ASS-Interaktion liefern konnten.

Die TXB₂ Werte waren in der Kontrollgruppe (kein ASS) und in der Dipyron Gruppe signifikant höher als in der Patientengruppe, die nur mit ASS behandelt wurden.

Um das klinische Outcome zu prüfen, wurden jeweils bei Aufnahme, Entlassung und nach drei Monaten der Barthel Index, der NIHSS-Score, sowie die mRS erhoben. Dipyron behandelte Patienten zeigten bereits zum Aufnahmezeitpunkt schlechtere Ergebnisse in allen erhobenen Score-Systemen. Weiterhin zeigten diese Patienten auch im Verlauf (Entlassung und 3-Monats Follow-up) die geringste klinische Verbesserung. Patienten, die nur mit ASS therapiert wurden, hatten nach drei Monaten die geringsten durch den Schlaganfall bedingten Ausfälle.

Insgesamt belegt diese Studie, dass eine Analgesie mit Dipyron bei Patienten nach ischämischen Schlaganfall mit der Plättchenhemmung durch ASS interferiert. Darüber hinaus sprechen die Ergebnisse dafür, dass eine hierdurch beeinträchtigte ASS Therapie das klinische Outcome der Patienten negativ beeinflusst.

Abkürzungen

ARA	Arachidonsäure
ASS	Acetylsalicylsäure
CPSP	central post-stroke pain
HHU	Heinrich-Heine-Universität
HMG-CoA-Reduktase	3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A-Reduktase
INR	International Normalized Ratio
KHK	Koronare Herzkrankheit
LDL	Low Density Lipoprotein
MAA	4-N- Methylaminoantipyrin
MoA	maximum of aggregation
mRS	modifizierte Rankin Skala
NSAID	non-steroidal anti-inflammatory drug
NIHSS	National Institutes of Health Stroke Scale
PAP	Plättchen-armes-Plasma
PFO	persistierendes Foramen ovale
PRP	Plättchen-reiches-Plasma
rt-PA	recombinant tissue-type plasminogen activator
TIA	transitorische ischämische Attacke
Tx	Thromboxan
TXB ₂	Thromboxan B ₂

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	- 1 -
1.1	Schlaganfall: Inzidenz, Definition und Risikofaktoren	- 1 -
1.2	Therapie	- 4 -
1.2.1	Akuttherapie	- 4 -
1.2.2	Prävention von ischämischen Schlaganfällen	- 6 -
1.3	Zusammenhang von Schlaganfall und Schmerzen	- 8 -
1.4.	Zusammenhang von Dipyron und ASS Wirkung	-10-
1.5.	Outcome nach Schlaganfall anhand neurologischer Scores	-11-
1.6	Fragestellung	-12-
2	Material und Methoden	-13-
2.1	Patientenkollektiv	-13-
2.2	Material	-14-
2.2.1	Blutentnahme	-14-
2.2.2	Gewinnung von Plasma	-14-
2.2.3	Substanzen und Lösungen	-14-
2.3	Methoden	-16-
2.3.1	Thrombozytenfunktionsmessung und Aggregometrie	-16-
2.3.2	Arachidonsäure induzierte Aggregation	-17-
2.3.3	In-vitro Zugabe von ASS	-18-
2.3.4	Auswertung und Interpretation der Aggregationskurven	-18-
2.3.5	Thromboxanbestimmung	-19-
2.3.6	Erhebung der neurologischen Score	-20-
2.3.7	Statistische Auswertung	-20-
3	Ergebnisse	-21-
3.1	Studienpopulation	-21-
3.1.1	ARA induzierte Thrombozytenaggregation im Vergleich	-23-
3.1.2	Thrombozytenverhalten nach Zugabe von ASS in-vitro	-26-
3.2	Kollagen-induzierte Thrombozytenaggregation im Vergleich	-29-
3.3	Thromboxankonzentration im Gruppenvergleich	-32-
3.4	Das Outcome im Gruppenvergleich	-34-

3.4.1.1	Der Barthel Index bei Aufnahme und Entlassung	-34-
3.4.1.2	Barthel Index im 3-Monats Follow up	-35-
3.4.2	NIHSS bei Aufnahme und Entlassung	-37-
3.4.3	Die modifizierte Rankin-Skala bei Aufnahme, Entlassung und im 3-Monats Follow up	-39-
4	Diskussion	-42-
4.1	Bedeutung einer verminderten ASS Wirkung	-42-
4.2	Einfluss von Analgetika auf die ASS Wirkung	-43-
4.3	Unterschiede der Thrombozytenaktivität nach Kollagen-Stimulation	-46-
4.4	Die Rolle von Thromboxan als Parameter der Thrombozytenaktivität und einer wirksamen ASS Therapie	-47-
4.5	Unterschiede im Outcome bezogen auf die Untersuchungsgruppen	-49-
4.6	Konsequenzen und Alternativen einer analgetischen Therapie	-51-
5	Literatur	-54-

1 Einleitung

Acetylsalicylsäure (ASS, Aspirin) spielt durch die irreversible Hemmung der thrombozytären Cyclooxygenase eine entscheidende Rolle in der antithrombotischen Therapie bei kardiovaskulären Ereignissen, wie Myokardinfarkt und zerebralem Infarkt. Die orale ASS Therapie in einer Dosis von 75-325 mg/d gehört weiterhin zum therapeutischen Standard bei der Sekundärprävention von thromboembolischen Ereignissen. Nachweislich senkt eine adäquate ASS Medikation klinische Endpunkte wie Tod, Myokardinfarkt und Schlaganfall bei Patienten mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko.¹

Dennoch profitieren nicht alle Patienten von einer sekundärprophylaktischen Einnahme der low-dose ASS. Neben verschiedenen anderen Ursachen wurde von Hohlfeld et al. an unterschiedlichen Patientengruppen gezeigt, dass eine additive analgetische Medikation mit Dipyron zu einer verminderten thrombozytenfunktionshemmenden Wirkung des ASS *ex-vivo* führt.^{2, 3, 4} Die vorliegende Dissertationsschrift untersucht diese Arzneimittelinteraktion an Patienten mit ischämischem Schlaganfall.

1.1 Schlaganfall: Definition, Inzidenz und Risikofaktoren

Grundsätzlich beschreibt der Begriff Schlaganfall oder im Englischen der Begriff stroke keinen einheitlichen Krankheitstypus. So unterscheidet man zerebrale ischämische Infarkte, die in etwa 85% der Fälle für einen Schlaganfall verantwortlich sind und hauptsächlich auf thromboembolische Ereignisse zurückzuführen sind, von Hirnblutungen, die in etwa 15% der Schlaganfälle ausmachen. Die häufigsten Gründe für die Entstehung von embolischen Hirninfarkten sind arteriosklerotische Veränderungen und dessen Folgen, sowie Vorhofflimmern und Koagulopathien. Zu den vaskulären Hirnblutungen rechnet man intrazerebrale Blutungen (10% der Fälle) und die Subarachnoidalblutung (5% der Fälle). In unserer Arbeit haben wir uns ausschließlich auf ischämische Schlaganfälle konzentriert.

Eine zerebrale Ischämie entsteht aufgrund einer Minderperfusion des Gehirns durch stenosierende oder obstruierende Prozesse der versorgenden Hirngefäße. Häufigste Gründe für einen zerebralen Insult sind thromboembolische Verschlüsse der intra- oder

extrakraniellen hirnversorgenden Arterien. Laut WHO liegt die weltweite Inzidenz für Schlaganfälle bei 15 Millionen pro Jahr und stellt damit die dritthäufigste Todesursache weltweit dar. In Deutschland liegt die Schlaganfallsinzidenz bei 1,3/1000 Einwohner.⁵ Die Lebenszeitprävalenz der gesamten Bevölkerung Deutschlands wird mit 1,63% angegeben.⁶

Eine wichtige klinische Unterscheidung stellt die grobe Differenzierung eines manifesten Schlaganfalls von einer transitorischen ischämischen Attacke (TIA) dar. Bei der TIA handelt es sich um eine reversible zerebrale Durchblutungsstörung, die mit neurologischen Symptomen einhergeht, welche sich per definitionem innerhalb von einer Stunde komplett zurückgebildet haben müssen. Bestehen weiterhin Symptome und lassen sich pathologische Befunde in der Bildgebung identifizieren ist von einem complete stroke auszugehen. Üblicherweise setzt die Symptomatik bei einem manifesten Schlaganfall schlagartig ein und bildet sich nur wenig zurück. Deutlich seltener sind progrediente Hirninfarkte (progressive stroke), bei denen die Symptomatik kontinuierlich oder schubweise zunimmt und in einen complete stroke übergehen kann. Seltener ist bei einem progressive stroke die Symptomatik im Verlauf regredient.

Es gibt eine Vielzahl von beeinflussbaren und nicht-beeinflussbaren Risikofaktoren zur Entstehung eines Hirninfarkts. Das Lebensalter spielt dabei eine wichtige Rolle bezüglich des Risikos eines Schlaganfalls. Das 10-Jahres Risiko für einen Schlaganfall steigt mit zunehmendem Alter an. Im Gegensatz dazu sinkt das Lebenszeitrisko mit zunehmendem Alter.^{7, 8} Weiterhin haben Männer ein erhöhtes Risiko für ischämische Schlaganfälle.⁷ Dabei haben Männer eine Schlaganfalls Inzidenz von 28.25/1000 (95% CI, 23.85-33.45) und Frauen von 21.79/1000 (95% CI, 18.75-25.32). Der Geschlechtsunterschied der Schlaganfallsinzidenz ist aber im höheren Lebensalter geringer und wird sogar teilweise umgekehrt, was vor allem durch eine höhere Lebenserwartung von Frauen begründet ist.⁸

Auch fanden sich erhebliche Unterschiede zwischen ethnischen Gruppen bezüglich des Schlaganfallrisikos. Es wurde eine doppelt so hohe Inzidenzrate bei der dunkelhäutigen Bevölkerung im Vergleich zu hellhäutigen Bevölkerung nachgewiesen (2.21 (1.77 bis 2.76; $P < 0.0001$)). Die Inzidenz war für alle Typen von Schlaganfall erhöht, wobei vor allem die Inzidenz für hämorrhagische Infarkte und somit für

erstmalige intrazerebrale Blutungen deutlich höher bei der schwarzen Bevölkerung im Vergleich zu der hellhäutigen Population war.⁹

Arterielle Hypertonie ist weiterhin der wichtigste selbstständige Risikofaktor zur Entstehung von hämorrhagischen und ischämischen Schlaganfällen in jeder Altersgruppe. Eine große Kohortenstudie im Asien-Pazifik-Raum mit über 400000 Teilnehmern hat gezeigt, dass eine systolische Blutdrucksenkung von 10 mmHg das Schlaganfallsrisiko um bis zu 54% senken kann. Diesen Benefit der Blutdrucksenkung hatte dabei die jüngste Teilnehmergruppe (<60 Jahren). Die älteste Kohorte (über 70 Jahre alt) profitierte in geringerem Maße mit einem durchschnittlichen 25% geringeren Schlaganfallsrisiko. Allgemein lässt sich sagen, dass jüngere Menschen einen größeren Anstieg des Schlaganfallsrisikos bei gleichem Blutdruckanstieg haben als höhere Altersgruppen.¹⁰ Konkret führt ein dauerhafter systolischer Blutdruckanstieg von 10 mmHg näherungsweise zu einer Verdopplung des Insult-Risikos bei Menschen unter 70 Jahren.¹¹ Kardiale Komorbidität trägt ebenfalls prädisponierend zum Schlaganfall bei. In vielen Studien konnte dieser Zusammenhang, in unterschiedlichen Effektstärken, belegt werden. Bereits 1991 konnte im Rahmen der *Framingham Studie* eine Verdopplung des Schlaganfallrisikos bei Männern und eine Verdreifachung des Risikos bei Frauen mit KHK, Herzinsuffizienz und Vorhofflimmern festgestellt werden. Dabei sinkt die Effektstärke der Risikofaktoren mit zunehmendem Alter. Eine Ausnahme bildet das Vorhofflimmern. Die Altersgruppe von 50-59 Jahren zeigt ein Risiko von 1,5% bei Vorhofflimmern einen Schlaganfall zu erleiden. Patienten mit Vorhofflimmern im Alter von 80-89 Jahren haben sogar ein Risiko von 23,5% einen Schlaganfall zu erleiden.¹²

Weiterhin sind zweifellos auch Stoffwechselerkrankungen Risikofaktoren zur Entstehung eines zerebralen Infarkts. Insbesondere Diabetes mellitus ist eine gut untersuchte Stoffwechselerkrankung, die im konkreten Zusammenhang mit einer höheren Inzidenz für kardio- und zerebrovaskuläre Ereignisse steht.^{13, 14} In diesem Zusammenhang zeigte sich in multivariaten Analysen, dass das metabolische Syndrom zu einer signifikante Risikoerhöhung für einen Schlaganfall (OR, 2.16; 95% CI, 1.48 bis 3.16) führt.¹³ Neben der bereits angesprochenen Hypertonie und Insulinresistenz (Diabetes mellitus) zeigen auch eine HDL-Erniedrigung bzw. eine LDL-Erhöhung und eine Hypertriglyceridämie (Dyslipidämie) als einzelne Faktoren einen

Zusammenhang mit einem erhöhten relativen Risiko. Auch der Zusammenhang zwischen Gesamtcholesterinspiegel und Schlaganfallinzidenz wurde vermehrt in den letzten Jahren untersucht: Eine große post-hoc Analyse, in der über 55.000 LDL-C Werte unter 4731 Patienten ausgewertet wurden, ergab eine Schlaganfallrisikoreduktion von über 30% bei Patienten, bei denen eine therapeutische LDL-C Reduktion von mindestens 50% des Ausgangswertes erreicht werden konnte. Dabei konnte keine Risikozunahme von hämorrhagischen Schlaganfällen festgestellt werden.¹⁵

Auch Lifestyle-Faktoren wie Nikotinkonsum stehen seit vielen Jahren im konkreten Zusammenhang mit einer erhöhten Schlaganfallinzidenz. Verglichen mit Menschen, die niemals geraucht haben, steigt das relative Risiko für einen zerebralen Insult um 3.7 (95% KI, 2.0 bis 6.9). Auch ehemalige Raucher weisen im Durchschnitt ein um 1.7-fach (95% KI, 0.9 bis 3.3) erhöhtes relatives Risiko auf.¹⁶ Auch andere Stoffwechselstörungen wie beispielsweise eine Hyperurikämie und Hyperhomocysteinämie stellen Faktoren für ein erhöhtes Schlaganfallsrisiko dar. Auch Erkrankungen wie Adipositas oder ein Schlaf-Apnoe Syndrom gelten als Risikofaktor für zerebrovaskuläre Ereignisse.^{17, 18}

Den beschriebenen pathophysiologischen Ursachen ist gemeinsam, dass sie mit einer Thrombozytenaktivierung einhergehen. Insofern ist die medikamentöse Sekundärprävention nach Schlaganfall unter anderem darauf ausgerichtet, die Thrombozytenaktivierung pharmakologisch zu hemmen.

1.2 Therapie

1.2.1 Akuttherapie

Der Schlaganfall ist als akuter medizinischer Notfall zu werten und sollte nach Möglichkeit auf spezialisierten Stationen, sogenannten Stroke-Stationen bzw. Stroke-Units, behandelt werden. Während des Transports in eine spezialisierte Klinik sollte auf eine adäquate zerebrale Oxygenierung durch die Gabe von Sauerstoff und die Vermeidung von hypotonen Blutdrücken geachtet werden. Eine medikamentöse hypertensive Therapie ist erst ab einem systolischen Blutdruck von ≥ 220 mmHg und/oder einem diastolischen Blutdruck von 120-140 mmHg oder einem isolierten

erhöhten diastolischen Blutdruck von ≥ 140 mmHg indiziert. Grundsätzlich gelten leicht hypertensive Werte bis 160-180 (systolisch)/ 90-100 (diastolisch) mmHg bei Patienten ohne bekannte Hypertonie in der Akutphase als wünschenswert. Bei bekannten Hypertonikern dürfen die Werte sogar noch etwas höher liegen.¹⁹

In der Akuttherapie wird eine Thrombolyse mit rt-PA bis zu 4,5 Stunden nach Symptombeginn empfohlen. Neuere Studien zeigen ein deutliches besseres Outcome nach drei Monaten, wenn die Thrombolyse innerhalb von 24 Stunden zur Rekanalisation des verschlossenen Gefäßes führt.²⁰ Von Kummer et al. belegten ebenfalls in ihrer Studie den Benefit einer Rekanalisation in einem Zeitintervall von 8-24 Stunden nach Schlaganfall. Dabei stieg der Anteil der Patienten mit einem günstigeren Verlauf in einer Untergruppe der Patienten von 23% (ohne Rekanalisation) auf 75% bei revaskularisierten Patienten.²¹

Vitalzeichen und neurologischer Status müssen direkt nach Patientenaufnahme evaluiert werden und im Behandlungsverlauf regelmäßig kontrolliert werden. Die kraniale Computertomographie ist die wichtigste apparative Untersuchung bei Patienten mit akutem Schlaganfall und sollte unverzüglich nach Aufnahme des Patienten durchgeführt werden. Weiterhin wird im Behandlungsverlauf eine Routinediagnostik des Herzens empfohlen, sowie eine sonographische Untersuchung der intra- und extrakraniellen hirnversorgenden Gefäße und des Herzens, um mögliche Gefäßstenosierungen oder kardiale Emboliequellen ausfindig zu machen. Mögliche kardiale Arrhythmien, welche mittels EKG, Langzeit-EKG und dem Monitoring auf der Stroke-Unit ausfindig gemacht werden sollen und/oder eine verminderte Auswurfleistung des Herzens benötigen ein kardiologisches Konsil, um gegebenenfalls eine kardiale bzw. antikoagulatorische Therapie einleiten zu können. Allgemeinmedizinische Parameter spielen bei der Versorgung eines zerebralen Infarkts ebenfalls eine vordergründige Rolle. Fieber sollte konsequent gesenkt werden, da die Empfindlichkeit der Neuronen gegenüber der Ischämie bei einem Fieberanstieg erhöht ist und sich somit negativ auf das Outcome der Patienten auswirkt.²² Häufig stellt auch eine post-ischämische Blutzuckerentgleisung eine behandlungsbedürftige Problematik dar. Zum einen kann sich die Stoffwechsellage bei Diabetikern während eines Schlaganfalls entscheidend verschlechtern, zum anderen weisen etwa 60% von nicht diabetischen Patienten eine Hyperglykämie nach Schlaganfall auf. Unabhängig

davon, ob die Hyperglykämie auf einen manifesten Diabetes mellitus zurückzuführen ist oder im Rahmen des Schlaganfalls erstmalig aufgetreten ist, muss leitliniengemäß, eine Insulin-Therapie ab einem Blutzuckerspiegel von $> 200 \text{ mg/dl}$ durchgeführt werden. Eine mangelhafte Blutzuckereinstellung steigert die Mortalitätsrate nach ischämischen Schlaganfall und stellt einen ungünstigen Faktor für den weiteren Krankheitsverlauf dar.²³

Bei Schlaganfallpatienten sollte der Elektrolythaushalt und Wasserhaushalt ausgeglichen sein und der Blutdruck in den ersten Tagen nach Ereignis im leicht hypertensiven Bereich gehalten werden, um eine ausreichende zerebrale Perfusion zu fördern. Weiterhin sollten mögliche Komplikationen wie ein Hirnödem, wie es z.B. im Rahmen eines malignen Mediainfarkts vorkommen kann, frühzeitig erkannt werden und gegebenenfalls einer direkten Dekompressionstherapie unterzogen werden.

1.2.2 Prävention von ischämischen Schlaganfällen

Neben Vermeidung von Risikofaktoren in der Primärprävention und einer effektiven Antikoagulation bei Vorhofflimmern (Ziel INR 2-3), sind Thrombozytenaggregationshemmer in der Sekundär- bzw. Tertiärprävention von großer Bedeutung. ASS ist seit Jahren ein etabliertes Mittel und wird in einer täglichen Dosis von 100 mg empfohlen. Metaanalysen ergaben eine relative Risikoreduktion von 13% (95% CI 6-19 %) unter ASS Therapie für vaskuläre Endpunkte (vaskulärer Tod, zerebraler Insult, Myokardinfarkt).²⁴ Eine Sekundärprävention mit ASS bei hochgradigen Stenosen hirnversogender Arterien gilt heute als Therapie der Wahl. Bei Patienten mit einem hohen Rezidivrisiko ($\geq 4\%$ pro Jahr) wird zweimal täglich die Gabe der fixen Kombination aus 25 mg ASS und 200 mg retardiertem Dipyridamol oder Clopidogrel 75 mg empfohlen. Bei ASS Unverträglichkeit ist die tägliche Gabe von 75mg Clopidogrel indiziert.²⁵ Studien weisen darauf hin, dass im Vergleich zu einer ASS Monotherapie Clopidogrel das relative Risiko für kardiovaskuläre Endpunkte sogar um 8,7% senkt. Eine kombinierte Therapie mit ASS und Clopidogrel kann in der sekundärprophylaktischen Standardtherapie dagegen nicht empfohlen werden, da kardiovaskuläre Ereignisse durch die Kombination nicht signifikant gesenkt werden, aber lebensbedrohliche Blutungen signifikant häufiger auftreten.²⁶ Ebenso ist die Gabe

aller Thrombozytenaggregationshemmer aufgrund einer erhöhten Blutungsgefahr bei hämorrhagischen Schlaganfällen kontraindiziert.

Neben dem Vorhofflimmern als häufigsten Grund für kardiale Embolien²⁷ spielen auch persistierende Foramina ovale (PFO) seltener eine Rolle für die Entstehung kardialer Embolien und den daraus resultierenden ischämischen Schlaganfällen.^{28, 29} Zu der Sekundärprävention eines PFO ist die evidenzbasierte Datenlage unbefriedigend. Generell wird bei einem isolierten PFO sekundärpräventiv zur Vermeidung eines erneuten ischämischen Infarkts ASS in einer Dosis von 100 mg/d empfohlen. Kommt es unter ASS Therapie dennoch zu einem Rezidiv oder besteht zusätzlich zu dem PFO ein Vorhofseptumaneurysma, galt lange eine orale Antikoagulation als Therapie der Wahl.³⁰ Ein möglicher Vorteil eines interventionellen Verschlusses des PFO im Gegensatz zur thrombozytenhemmenden bzw. antikoagulatorischen Therapie wurden viele Jahre kontrovers diskutiert.³¹ Neuere, hochrangig publizierte Studien sprechen inzwischen klar für den interventionellen Verschluss eines PFO zur Vermeidung eines erneuten Schlaganfalls.^{32, 33, 34}

Bei nicht-kardiogenen zerebralen Ischämien konnte in mehreren Studien kein Vorteil von oralen Antikoagulantien gegenüber Thrombozytenaggregationshemmern festgestellt werden.³⁵ Die Warfarin Aspirin Recurrent Stroke Study zeigte dabei ein annähernd gleiches Risiko für ischämische und hämorrhagische Ereignisse bei einer oralen Antikoagulation mit Warfarin (INR 1,4-2,8) wie für eine sekundärpräventive Therapie mit ASS. Auch eine stärkere orale Antikoagulation (INR 2,0-3,0) zeigte kein verbessertes Outcome, da ein signifikant erhöhtes Blutungsrisiko einen möglichen Benefit bezüglich ischämischer Ereignisse bei weitem übersteigt, sodass orale Antikoagulantien im Vergleich zu Thrombozytenaggregationshemmern bei stattgehabter nicht-kardiogener zerebraler Ischämie oder TIA nicht empfohlen werden können.³⁶

Die Datenlage bei Dissektion hirnversorgender Arterien ist ebenfalls unbefriedigend. Bei Dissektionen hirnversorgender Arterien und nachgewiesener Embolisierung kann eine auf 6 Monate begrenzte orale Antikoagulation von Nutzen sein, obwohl ein Review von 26 Beobachtungsstudien mit insgesamt 326 Patienten keinen signifikanten Unterschied bezüglich Mortalität oder Behinderung zwischen oralen Antikoagulantien und Thrombozytenaggregationshemmern zeigen konnte.³⁷

Da ein arterieller Hypertonus den wichtigsten Risikofaktor eines Schlaganfalls darstellt, ist sowohl bei der Primärprävention als auch bei der Sekundärprävention eine angemessene Therapie bei hypertensiven Patienten von großer Bedeutung. Welche Medikamente dabei den größten Nutzen zeigen, ist häufig eine Einzelfallentscheidung. In den letzten Jahren ist immer wieder der Nutzen einer medikamentösen Behandlung mit Statinen (HMG-CoA-Reduktase Inhibitoren) auf die Sekundärprophylaxe nach Schlaganfall in den Blickpunkt gerückt. Grundsätzlich wird eine Statintherapie bereits ab dem Aufnahmetag empfohlen. In der SPARCL-Studie (Stroke Prevention by Aggressive Reduction in Cholesterol Levels) wurde die Effektivität von Atrovastatin versus Plazebo untersucht. Dabei wurden Patienten mit TIA oder manifestem Schlaganfall, aber ohne KHK, mit einem LDL-C Wert von 100-190 mg/dl mit 80mg/d Atrovastatin bzw. Plazebo behandelt. Nach etwa 5 Jahren zeigte sich eine signifikante Erniedrigung (20% relativ bzw. 3,5% absolute Risikoreduktion im Zeitraum von 5 Jahren) der Schlaganfallinzidenz in der mit Statinen behandelten Gruppe. Die Zahl der hämorrhagischen Schlaganfälle war hingegen in der Atrovastatin Gruppe (55/218) höher als in der Plazebo Gruppe (33/274). Zusammengefasst werden Statine zur Sekundärprophylaxe ischämischer Insulte klar empfohlen, wohingegen eine Therapie mit Statinen bei Patienten mit hämorrhagischen Schlaganfall nur in Ausnahmefällen erfolgen sollte.^{38, 39}

1.3. Zusammenhang von Schlaganfall und Schmerzen

Schmerzen sind eine regelmäßig beobachtete Begleiterscheinung nach Schlaganfall. Im Zuge der PRoFESS –Untersuchung wurde bei 10,6% von 15754 untersuchten Schlaganfallpatienten ein chronisches Schmerzleiden nach Schlaganfall festgestellt.⁴⁰ Andere Studien ermittelten bei 42% bzw. 55% der untersuchten Schlaganfallpatienten chronische Schmerzen^{41, 42}, wobei auch andere Faktoren, die die Schmerzsymptomatik und Schmerzintensität beeinflussten, ermittelt werden konnten.⁴³ Ebenfalls konnte ein Zusammenhang zwischen chronischen Schmerzen und funktionell-körperlichen Einschränkungen nachgewiesen werden: 13,7% der Schlaganfallpatienten mit chronischen Schmerzen hatten im Vergleich zu 8,7% der Patienten ohne chronische

Schmerzsymptomatik nach Insult einen Abnahme von mindestens einem Punkt im modifizierten Ranking Score, was ein schlechteres funktionelles Outcome bedeutet (s. 1.5).⁴⁰

Sensorische und motorische Defizite führen nach Schlaganfall zu einer Immobilität und einer möglichen abnormen Körperhaltung, was im weiteren Verlauf häufig zu muskuloskelettalen Schmerzen führen kann und wonach der Patient befragt werden muss. Ziel ist es, Schmerzen durch individuell angepasste Lagerung, Bewegung oder die Gabe von Analgetika zu lindern.⁴²

Ein typisches Phänomen nach Schlaganfall ist eine schmerzende Schulter. Genaue Angaben zur Prävalenz variieren aufgrund unterschiedlicher Definitionen des Symptoms *Schulterschmerz* sehr stark. Sackley et al. ermittelten unter 600 Schlaganfallpatienten eine post-stroke Prävalenz für das Schulterschmerzsyndrom von 55%. Oft besteht eine Subluxation des Schultergelenks und im späteren Verlauf manifestiert sich eine Spastik im Schulterbereich, was als mögliche Ursachen für das Schultersyndrom angesehen werden kann.⁴² Als wirksame Maßnahme gegen das Auftreten bzw. zur Behandlung des Schulter-Arm-Syndroms hat sich die Vermeidung von passiver und schmerzauslösender Abduktionen und Flexionen der oberen Extremität erwiesen.⁴⁴ Alternativ wird bei subakutem und auch chronischen Schulterschmerzsyndrom nach Schlaganfall die zeitlich begrenzte Einnahme von NSAIDs empfohlen, auch wenn die Evidenzqualität einer analgetischen NSAID-Therapie bei Schulter-Arm-Syndrom als gering einzustufen ist (Evidenzklasse 4).⁴⁵ Auch der Einsatz von oralen Kortikosteroiden kann bei regionalen Schmerzen nach Schlaganfall zu einer eindeutigen Verbesserung der Schmerzsymptomatik führen.⁴⁶

Eine unmittelbare Konsequenz des hirnorganischen Schadens, welcher in Folge der zerebralen Ischämie entsteht, ist ein möglicher neuropathischer bzw. zentraler Schmerz (Central post-stroke pain; CPSP). Die Inzidenz eines CPSP liegt laut einer Studie von Grethe Andersen et al. bei 8%. Allgemein muss mit dem Auftreten neuropathischer Schmerzen bei bis zu 20% der Patienten nach Schlaganfall gerechnet werden. Häufig kommt es zu einer Überschneidung durch andere schmerzauslösende Faktoren wie z.B. Spastik oder anderen muskuloskelettalen Problemen nach Schlaganfall, sodass es nicht immer möglich ist neuropathische Schmerzen von anderen Schmerzsyndromen zu differenzieren.⁴⁷

Charakterisiert wird der CPSP durch kontinuierliche oder intermittierende Schmerzen und Sensibilitätsstörungen in Körperregionen, die mit dem ischämisch geschädigten Hirnarealen korrespondieren.⁴⁸ Der Art des Schmerzes ist dabei bei den meisten CPSP Patienten inkonstant und wird häufig als brennend oder stechend (lacerating pain) charakterisiert. Die Schmerzen werden von den meisten Patienten als sehr belastend empfunden und können von Schlafproblemen bis hin zum Suizid führen.^{43, 49-51}

Eine individuell wirksame Therapie zur Behandlung der CPSP ist häufig nur empirisch durch „Ausprobieren“ verschiedener Schmerztherapeutika zu finden. Als Therapie der ersten Wahl gilt dabei die Behandlung mit Antidepressiva.⁵²

Grundsätzlich werden je nach Schmerzintensität und Schmerzdauer im klinischen Alltag verschiedene Analgetika verschrieben, wobei sich vor allem Dipyron heute einer großen Beliebtheit erfreut, da es trotz seiner analgetischen und antipyretischen Potenz im Gegensatz zu NSAIDs wahrscheinlich nicht oder weniger das Risiko für gastrointestinalen Ulcera erhöht.² So wurden im Jahr 2015 über 190 Millionen Tagesdosen (defined daily doses) Metamizol in Deutschland verordnet. 2006 waren es 74 Millionen Tagesdosen. Dies entspricht einer Zunahme von über 150% in weniger als 10 Jahren. (Arzneiverordnungs-Report 2016. Heidelberg: Springer Medizin Verlag, 2016).

1.4 Zusammenhang von Dipyron und ASS Wirkung

Eine unterschiedliche Wirksamkeit einer sekundärprophylaktischen ASS Einnahme nach ischämischen Schlaganfall konnte bereits vor Jahren Hohlfeld et. Al in ihrer Arbeit zeigen. Dabei wurde bei 24% eine reduzierte *in-vivo* Wirkung des ASS festgestellt. Bei weiteren 11% der Kohorte konnte eine reduzierte ASS Sensitivität, anhand eines vordefinierten Tx Werts, bei *in-vitro* Gabe von ASS festgestellt werden.⁵³ Ein Zusammenhang von Dipyronaufnahme und ASS-Wirksamkeit war zu dem Zeitpunkt noch nicht bekannt.

Eine Co-Medikation von ASS und Dipyron wirkt sich negativ auf die plättchenhemmende Funktion von ASS aus. Neben *in-vitro* Versuchen konnte dieser Zusammenhang bei Patienten einer koronaren Herzerkrankung *ex-vivo* gezeigt werden.³ Es zeigte sich eine stärkere Thrombozytenaktivität bei Patienten, die neben ASS auch Dipyron einnahmen, im Vergleich zu der Gruppe, die nur mit ASS behandelt

wurde.⁴ Dieser Zusammenhang äußert sich auch in einer verstärkten Thromboxansynthese bei Patienten, die neben ASS auch Dipyron einnahmen.⁵⁴ Pharmakologisch lagert sich Dipyron bzw. der aktive Metabolit MAA reversibel an die thrombozytäre COX-1 an. Damit blockiert MAA die Acetylierung der COX-1 an ihrem aktiven Zentrum durch das ASS, sodass die plättchenhemmende Funktion des ASS für die komplette Lebensdauer der betroffenen Thrombozyten außer Kraft gesetzt ist.³

1.5 Das Outcome nach Schlaganfall anhand neurologischer Scores

Der Barthel Index ist wohl der am stärksten verbreitete Score zur Messung der alltäglichen Einschränkung in Folge eines Schlaganfalls.⁵⁵ Anhand des Barthel Index kann sowohl der akute Zustand eines Schlaganfallpatienten, als auch die Folgen und der klinische Verlauf nach einem Schlaganfall standardisiert beobachtet und dokumentiert werden.⁵⁶ Dabei wird die Fähigkeit des Patienten zehn verschiedene Alltagsfunktionen zu bewältigen anhand einer Punktetabelle vom Arzt oder Pflegepersonal bewertet. Mögliche Veränderungen des Allgemeinzustands des Patienten während der klinischen Behandlung oder während der nachfolgenden Rehabilitation können Hinweise auf die Effizienz der Therapie geben.⁵⁷

Auch die modifizierte Rankin-Skala (mRS) hat sich verstärkt in den letzten Jahren als valides Instrument zur Abschätzung der Pflegebedürftigkeit nach Schlaganfall erwiesen.⁵⁸

Die modifizierte Rankin-Skala reicht von null (keine Symptome) bis sechs (Tod infolge des Schlaganfalls) und umfasst, ähnlich wie der Barthel Index, die alltägliche Beeinträchtigung infolge eines Schlaganfalls. Die Skala lässt sich einfach anwenden und ist daher weitestgehend unabhängig von der beobachtenden Person.⁵⁹

Ein Scoresystem zur Beurteilung des neurologischen Status nach Schlaganfall ist der National Institutes of Health Stroke Score (NIHSS). Im Gegensatz zu dem Barthel-Index und dem mRS handelt es sich beim NIHSS um eine rein neurologische Befunderhebung bei der Bewusstseinsgrad, Motorik, Sehvermögen, Sensibilität und das Sprachvermögen eines Patienten bewertet werden. Insgesamt umfasst der Score

13 Unterpunkte mit einer möglichen Gesamtpunktzahl von 42 Punkten, wobei eine höhere Punktzahl einen schlechteren neurologischen Status widerspiegelt. Darüber hinaus dient der NIHSS in der akuten Phase eines Schlaganfalls dazu über eine Thrombolyse bei einem ischämischen Schlaganfall zu entscheiden.⁶⁰

1.6 Fragestellung

Die hier vorliegende Arbeit befasst sich schwerpunktmäßig mit zwei zentralen Fragen:

- Welchen Einfluss hat eine Dipyron Therapie bei Patienten nach Schlaganfall auf die thrombozytenhemmende Wirkung des ASS?
- Beeinflusst die Dipyron Gabe den Allgemeinzustand und/oder die Rehabilitation (Outcome) der Patienten mit ischämischen Schlaganfall?

Wir gingen der Frage nach, ob die von Hohlfeld et al. *in-vitro* und an KHK Patienten *ex-vivo* festgestellte Beeinflussung der ASS Wirkung durch Dipyron ebenso bei einem Krankheitsbild zu finden ist, bei dem nicht der lokale thrombotische Verschluss sondern eine thromboembolische Genese des Verschlusses vorherrscht. Daher haben wir die Arzneimittelinteraktion bei neurologischen Schlaganfallpatienten in einer Beobachtungsstudie untersucht.^{4, 54} Als nächstes standen die Folgen einer möglicherweise durch Dipyron verursachten insuffizienten low-dose ASS Therapie im Fokus unserer Untersuchung. Um einen Zusammenhang von Dipyrongabe, insuffizienter ASS Therapie und der Beeinflussung des klinischen Outcome herauszufinden, mussten mögliche Störfaktoren wie Co-Medikation, Nebenerkrankungen und individuelle Unterschiede soweit wie möglich angeglichen und berücksichtigt werden. Der Allgemeinzustand der Patienten wurde während des stationären Aufenthalts, aber auch nach Entlassung evaluiert, um eine möglichst präzise Antwort darauf geben zu können, welche Patientengruppe von welcher Therapie am stärksten profitiert hat. Dazu wurde bei allen Patienten unserer Studie der Barthel-Index, NIHSS-Score und die modifizierte Rankin Skala, jeweils bei Aufnahme auf und Entlassung von der Stroke-Unit sowie nach 3 Monaten im Follow-up Gespräch, erhoben.

2 Material und Methoden

2.1. Patientenkollektiv

Die vorliegende Arbeit wurde in Übereinstimmung mit der Deklaration von Helsinki durchgeführt und von der Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf positiv bewertet (Studiennummer: 4190). Vor der Blutabnahme wurden alle Patienten über Methoden und Fragestellung der Studie informiert und gaben ein schriftliches Einverständnis zur anonymisierten Teilnahme an dieser Studie. Patienten, die nicht einwilligungsfähig waren, wurden nicht in die Studie eingeschlossen. In die Studie wurden insgesamt 61 Patienten aufgenommen, die zum Zeitpunkt der Blutabnahme alle auf der Stroke-Unit der Universitätsklinik der HHU Düsseldorf stationär behandelt wurden. Voraussetzung zur Teilnahme war ein akuter ischämischer Schlaganfall bzw. TIA oder ein ischämischer Schlaganfall in der Vorgeschichte. Je nach Einteilung zu den jeweiligen Untersuchungsgruppen mussten weitere Kriterien erfüllt werden. Patienten wurden nur in die Gruppe A eingeschlossen, wenn sie mindestens drei Tage lang keine nicht-opioiden Analgetika eingenommen hatten und ein ASS Gebrauch in den letzten Wochen ausgeschlossen werden konnte. Die Einteilung zur Untersuchungsgruppe B erfolgte bei Patienten, die mindestens drei Tage lang low-dose ASS eingenommen hatten und nicht mit nicht-opioiden Analgetika therapiert wurden. Die Hälfte der Patienten dieser Gruppe hatte ASS bereits vor stationärer Aufnahme als Dauermedikation eingenommen. Patienten der Gruppe C erfüllten die Voraussetzungen durch eine mindestens dreitägige parallele Einnahme von low-dose ASS und Dipyron. Dabei spielte die Dosis und die Darreichungsform von Dipyron keine Rolle. Es gab keine Ausschlusskriterien bezüglich Alter, Geschlecht oder Nebenerkrankungen (vgl. Tbl. 1).

2.2. Material

2.2.1 Blutentnahme

Die Blutentnahme wurde auf der Stroke-Unit der neurologischen Klinik der Heinrich-Heine- Universität Düsseldorf vorgenommen. Nach Aufklärung und schriftlichem Einverständnis der Patienten wurde ihnen 20-30 ml venöses Vollblut entnommen. Das Vollblut wurde in Vacutainer® (BD Vacutainer® Systems, Plymouth, UK) aufgenommen, welche zur Antikoagulation eine (1:10) Zitratvorlage (Na- Zitrat 129 mM) beinhalten. Direkt nach Entnahme wurde das Blut in das Labor des Institutes für Pharmakologie und Klinische Pharmakologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf transportiert und dort für die Untersuchungen vorbereitet.

2.2.2 Gewinnung von Plasma

Das Zitratblut wurde in Vacutainern für 10 Minuten mit 1000U/min bei Raumtemperatur zentrifugiert (Minifuge RF, Heraeus Christ, Osterode, Deutschland). Das entstandene plättchenreiche Plasma (PRP) wurde dann abgehoben und in ein Polystyrolröhrchen (Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Deutschland) pipettiert. Das restliche Zitratvollblut wurde für 5 Minuten bei 15000 U/min zentrifugiert (Biofuge 15, Heraeus Christ, Osterode, Deutschland), um plättchenarmes Plasma (PAP) herzustellen.

2.2.3 Substanzen und Lösungen

Substanzen und Bezugsquellen:

AChE	Acetylcholinesterase
Arachidonsäure	NatuTec GmbH, Frankfurt am Main, Deutschland; #10AA
Aspisol® (Acetylsalicylsäure)	Bayer, Leverkusen, Deutschland
Ethanol	VWR Chemicals, Fontenay-sous-Bois,

	Frankreich, #20821.330
HCl	Karl Roth GmbH; Karlsruhe, Deutschland; #6331.2
Hepes 3375	Sigma- Aldrich, St. Louis, USA; #H-3375
Indometacin, 99% TLC	Sigma- Aldrich, St. Louis, USA
KCl	Karl Roth GmbH; Karlsruhe, Deutschland; #P017.1
Kollagen-Reagens-Horm®	Nycomed, Linz, Österreich
MgCl ₂ #1.05833	Merck, Darmstadt, Deutschland;
Na ₂ EDTA	Merck, Darmstadt, Deutschland; #8418
NaCl #1.06404	Merck, Darmstadt, Deutschland;
NaH ₂ PO ₄	Merck, Darmstadt, Deutschland; #8599006
NaHCO ₃ #1.06329	Merck, Darmstadt, Deutschland;
NaOH	Merck, Darmstadt, Deutschland; #9620862

Lösungen:

Alkoholische NaOH: 100 mM NaOH in Ethanol

Arachidonsäure: Stammlösung: 100 mM in Ethanol; Gebrauchslösung: 100 µl Stammlösung + 100 µl alkoholische NaOH, getrocknet unter N₂. Am Versuchstag wurde die Gebrauchslösung in 200 µl Tris-Puffer aufgenommen.

EDTA 77mM

TM-Puffer (pH 7,4): 134 mM NaCl, 12 mM NaHCO₃, 2,9 mM KCl, 0,36 mM NaH₂PO₄ x H₂O, 1 mM MgCl₂ x 6H₂O, 5 mM HEPES

Tris-Puffer (pH 7,4): 50 mM Tris-HCl

Karl Roth GmbH; Karlsruhe,
Deutschland; #4855.2

2.3 Methoden:

2.3.1 Thrombozytenfunktionsmessung und Aggregometrie

Um die Funktionsfähigkeit der Thrombozyten zu bestimmen untersuchten wir, wie auch in Vorgängerarbeiten, die Aggregationsfähigkeit der Plättchen durch das turbidimetrische Verfahren nach Born.^{61, 62} Gemessen wird bei diesem Prinzip die optische Dichte bzw. eine Dichteänderung einer Plättchensuspension. Das dazu verwendete PRP wird durch einen Magnetprüher bei 1000 U/min und 37°C in einer Küvette ständig bewegt. Durch Zugabe der plättchenstimulierenden ARA oder Kollagen in die mit PRP gefüllte Küvette entstehen Thrombozytenaggregate. Diese Aggregate haben, im Vergleich zum unstimulierten PRP, eine gesteigerte Lichtdurchlässigkeit. Diese Lichttransmission wird durchgehend gemessen und eine Trübungsänderung der Suspension als Funktion der Zeit stellt die Aggregationsfähigkeit der Thrombozyten dar und wird in Form einer Aggregationskurve aufgezeichnet. Angewendet wurde ein Zweikanalaggregometer (Labor APACT, Labor Biomedical Technologies, Ahrensburg, Deutschland) mit Makroküvetten inklusive Mixer (Dispo-System Micro 1.5, Labor Biomedical Technologies, Ahrensburg, Deutschland). Das Aggregometer war direkt an einen Schreiber (Packard model 621,

Zaventem, Belgien) angeschlossen. Der Papiervorschub betrug 3 cm/min. Zu Beginn jeder Messreihe, das heißt bei jedem neuen Patienten oder beim Austausch von ARA durch Kollagen als Thrombozytenstimulus, wurden die maximale und die basale Transmission als Eichwert festgelegt. Für den Nullwert wurde das Aggregometer mit PRP und für den Maximalwert mit PAP geeicht.

2.3.2 Arachidonsäure- und Kollagen-induzierte Aggregation

Für jeden Aggregationsversuch benötigte man ein Probenvolumen von insgesamt 500 µl. Dieses Volumen setzte sich aus 400 µl PRP und 100 µl TM-Puffer zusammen. Dieses Gemisch wurde dann für 4 Minuten bei 37°C in einem Heizblock erwärmt und dann für weitere 2 Minuten im Aggregometer (1000 U/min; 37°C) gerührt. Nach insgesamt 6 Minuten wurden dann 10 µl Arachidonsäure in einer Konzentration von 1 mM oder 2 µg/ml Kollagen hinzugefügt, um die Thrombozyten zu stimulieren und die Aggregation zu starten. Die nächsten vier Minuten wurde dann eine mögliche Aggregation mittels Aggregometer aufgezeichnet. Eine typische Aggregationskurve der jeweiligen Gruppen findet sich in Abbildung 1. Die Aggregation und eine mögliche TXB₂ Synthese wurde mittels Zugabe von 0,4 mM Indometacinlösung und 4,5 mM EDTA gestoppt.

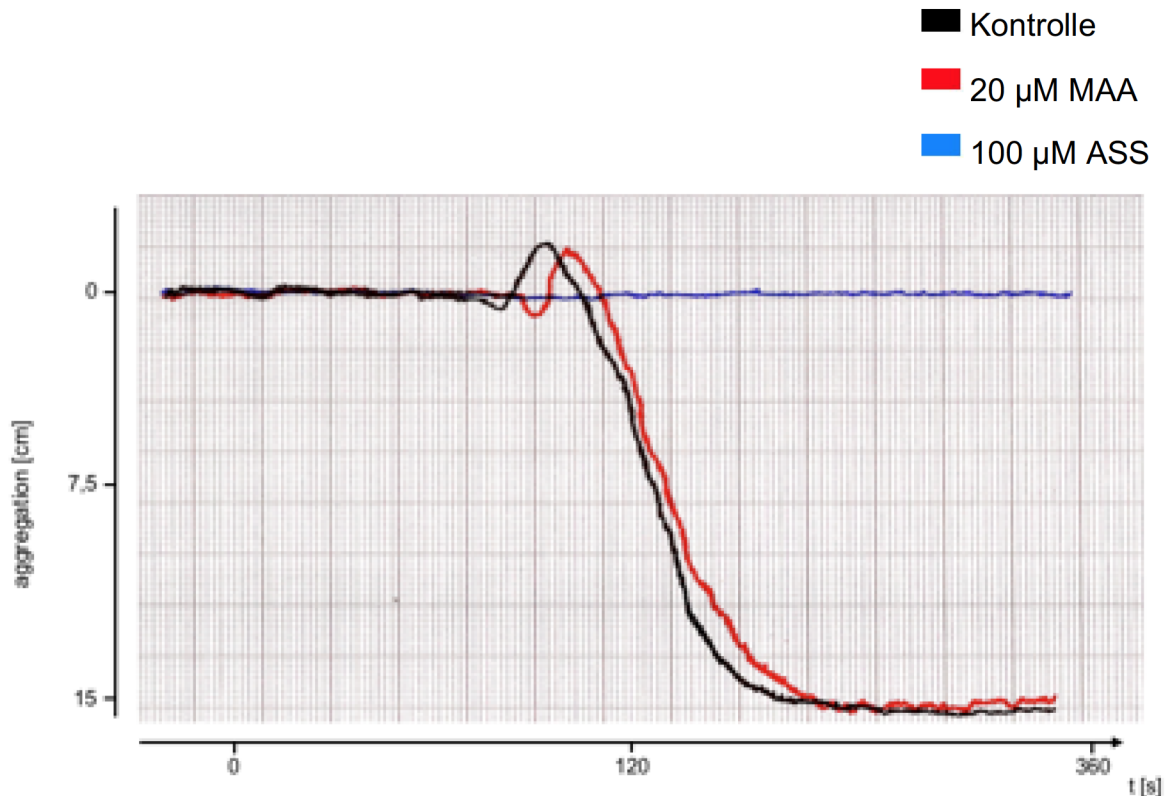


Abb. 1: Typische Aggregationskurven der drei Gruppen.

2.3.3 *In-vitro* Zugabe von ASS

Neben den Kontrollmessungen wurde in weiteren Messungen ASS *in-vitro* hinzugefügt, um eine Thrombozytenhemmung durch ASS zu untersuchen. Dafür wurde für diese Messungen statt 100 µl TM Puffer, wie es für die Kontrollmessungen verwendet wurde, 100 µl ASS in einer Konzentration von 30 µM oder 100 µM 6 min vor Stimulation dem PRP hinzugefügt. Am weiteren Ablauf des Aggregationsversuchs wurde nichts verändert.

2.3.4 Auswertung und Interpretation der Aggregationskurve

Zur Auswertung der Aggregationskurven wurde zum einen die Tangentensteigung und zum anderen die Amplitude bestimmt.

Betrachtet man eine typische Aggregationskurve, lässt sich die Kurve in verschiedene Phasen einteilen. Nach Zugabe der ARA kommt es zum „shape change“ was aus einer

Formänderung der Thrombozyten resultiert. Die Thrombozyten bilden Pseudopodien, es kommt zu einer Oberflächenzunahme der Plättchen und dadurch zu einer kurzzeitigen Abnahme der Lichttransmission. Die Kurve fällt unter die Nulllinie. Danach bilden die Thrombozyten Fibrinogenbrücken und die Lichttransmission nimmt stark zu. Die Aggregationskurve fällt daher stark ab. An der Stelle der maximalen Steigung wurde die Tangentensteigung in cm/min gemessen. Als Amplitude [cm] war der Abstand von der Nulllinie bis zum höchsten Punkt der Aggregationskurve definiert und entsprach der maximalen Transmission einer Messung. Aus dem Wert der Amplitude [cm] konnte das maximum of aggregation [%] berechnet werden. Dazu wurde der Abstand von der geeichten Nulllinie (PRP) zu dem Maximalwert (PAP) gemessen und durch diesen Wert wurde die gemessene Amplitude geteilt.

War die gemessene Amplitude unter 1 cm oder das errechnete MoA unter 5%, wurde die Aggregation als nicht auslösbar gewertet. In diesem Fall kann man von suffizienten Thrombozytenaggregationshemmung sprechen, da sich keine Thrombozytenaggregate bildeten und die Blutplättchen in ihrer physiologischen Aufgabe der primären Hämostase gehemmt waren.

2.3.5 Thromboxanbestimmung

Thromboxan ist ein prostaglandinähnliches Eicosanoid, welches hauptsächlich in Thrombozyten vorkommt und als Aktivitätsparameter der Blutplättchen genutzt werden kann. Aufgrund der sehr kurzen Halbwertszeit des TXA_2 wird das stabile Hydrolyseprodukt TXB_2 in Messungen bestimmt.

Zur TXB_2 Bestimmung nutzten wir das Thromboxane B_2 EIA KIT (Cayman Chemical Company; Ann Arbor, USA; #519031). Das Prinzip dieses Assays basiert auf einem Konkurrenzverhalten von TXB_2 und einem TXB_2 -Tracer. Bei dem Tracer handelt es sich um TXB_2 -AChE (Acetylcholinesterase) Konjugate. Beide Substanzen konkurrieren um spezifische TXB_2 - Kaninchen-Antikörper-Bindungsstellen. Die Tracer Konzentration wird konstant gehalten, wohingegen die TXB_2 je nach Probe unterschiedlich ist. Letztlich ist die Menge an Tracer, die an das Antiserum binden kann, umgekehrt proportional zu TXB_2 Konzentration. Im nächsten Schritt bindet diese Kaninchen-Antiserum- TXB_2 – Verbindung an den monoklonalen Maus- Anti- Kaninchen- IgG,

welche der Platte zuvor angeheftet wurden. Die Platte wurde nun gewaschen, um alle ungebundenen Reagenzien zu entfernen. Dann wird das Ellmans-Reagens, welches das AChE- Substrat enthält, hinzugefügt. Bei der nun entstehenden enzymatischen Reaktion kommt es zu einer spektrophotometrischen bestimmbaren Gelbfärbung, die proportional zu der Menge an gebundenem TXB₂ – Tracer ist und somit antiproportional zu der gesuchten TXB₂ Konzentration ist.⁶³

2.3.6 Erhebung der neurologischen Scores

Neben der Thrombozytenaggregometrie war die Erhebung klinischer Scores als Verlaufsparemeter und zur Abschätzung des Outcomes der Patienten ein wesentlicher Bestandteil unserer Studie. So wurden sowohl der Barthel-Index, der NIHSS und der mRS am ersten Tag des stationären Aufenthalts erhoben. Alle drei Scoresysteme basieren jeweils auf einem standardisierten Bewertungsbogen, der vom medizinischen Personal erhoben werden kann. Der Barthel-Index kann ebenfalls vom geschulten Pflegepersonal erhoben werden, was in unserer Studie auch regelhaft der Fall gewesen war. Bevor die Patienten von der neurologischen Stroke-Unit entlassen wurden, wurden alle drei Scores reevaluiert. Dies geschah meistens einen Tag vor der Entlassung, seltener am Tag der Entlassung. Nach drei Monaten sollten gemäß unserem Studiendesign der Zustand der Patienten durch Erhebung der Scores neu bewertet werden. Dazu führten wir Telefoninterviews mit Patienten und mit ihren weiterbehandelnden Hausärzten. Bei Patienten, die einen so schlechten Allgemeinzustand aufwiesen, dass ein ausführliches Telefongespräch nicht möglich war, wurden die jeweiligen Hausärzte befragt und mit ihnen zusammen die Scores erhoben. In den meisten Fällen konnten uns die Schlaganfallpatienten aber konkret unsere Fragen beantworten, sodass man daraus die neurologischen Scores berechnen konnte. Bei Patienten, die nicht all unsere Fragen genau beantworten konnten, wurden ebenfalls ihre Hausärzte zusätzlich befragt.

2.3.7 Statistische Auswertung

Die Statistik Software GraphPad Prism (San Diego, USA) und die IBM SPSS © -

Software (NewYork, USA) wurde für die statistische Auswertung der erhobenen Daten verwendet. Dabei wurde ein $p < 0,05$ als signifikant angesehen. Die Daten wurden jeweils als Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung des Mittelwertes (SEM) von n Messungen bzw. Patienten angegeben. Kontinuierliche Variablen wurden unter Verwendung von t-Tests und ANOVA analysiert. Binäre Variablen wurden durch den Chi-Quadrat-Test geprüft.

3 Ergebnisse

Um zu untersuchen, welchen Einfluss die Dipyron-Einnahme auf die plättchenhemmende Funktion des ASS hat, wurde das PRP von drei verschiedenen Gruppen von Schlaganfallspatienten analysiert. Dafür wurde neben einer Kontrollgruppe (Gruppe A), die weder ASS noch Dipyron bekamen, das PRP einer reinen ASS Kontrollgruppe (Gruppe B) mit der Testgruppe (Dipyron + ASS; Gruppe C) verglichen.

3.1 Studienpopulation

Um eine bestmögliche Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu gewähren, wurden die baseline characteristics aller Patienten der drei Studiengruppen verglichen (Tbl. 1). Dabei wurde neben Angaben wie z.B. Alter und Geschlecht auch die Co-Medikation, der Patienten zum Zeitpunkt der Blutabnahme untersucht. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen gab es dabei erwartungsgemäß bei der ASS und Dipyron Medikation. Weiterhin waren signifikant mehr Patienten der Gruppe A oral antikoaguliert. Weitere signifikante Unterschiede gab es zwischen den Studiengruppen nicht.

Gesamtanzahl	Gruppe A	Gruppe B	Gruppe C	p-Wert		
	n= 20	n= 20 Aspirin	n= 21 Aspirin Dipyron	A-B	A-C	B-C
Anzahl Plättchenhemmung	n= 20 (100%)	n=2 (10%)	n=13 (61%)	<0.001	0.002	<0.001
Alter (Jahre)	61 ± 21	68 ± 14	73 ± 21			
Männer	13 (65%)	13 (65%)	13 (61,9%)	1	0.837	0.837
Schlaganfall	16 (80%)	13 (65%)	15 (71,4%)	0.288	0.523	0.658
TIA	4 (20%)	7 (35%)	6 (28,6%)	0.288	0.523	0.658
Thrombolyse	5 (25%)	2 (10%)	3 (14,3%)	0.212	0.387	0.675
Tage im Krankenhaus	7,9 ± 5,1	6,7 ± 2,6	10,1 ± 7,8	0.374	0.297	0.079
Tod	1 (5%)	0	3 (14,2%)	0.311	0.317	0.079
Schlaganfall in der Vorgeschichte	4 (20%)	7 (35%)	3 (14,2%)	0.288	0.627	0.123
Adipositas	2/19 (10,5%)	5/18 (27,7%)	5/17 (29,4%)	0.181	0.153	0.915
Hypertonie	14 (70%)	16 (80%)	17 (81%)	0.465	0.44	0.94
Hypercholesterinämie	5 (25%)	4 (20%)	7 (33%)*	0.705	0.358	0,2
Diabetes mellitus	3 (15%)	3 (15%)	7 (33%)	1	0.173	0.173
Raucher	6 (30%)	4 (20%)	4 (19%)	0.465	0.414	0.939
ASS	0 (0%)	20 (100%)	21 (100%)	<0.001	<0.001	1
Dipyron	0 (0%)	0 (0%)	21(100%)	1	<0.001	<0.001
Clopidogrel	3 (15%)	0 (0%)	2 (9.5%)	0.072	0.592	0.147
ACE- Hemmer	7 (35%)	12 (60%)	11 (52%)	0.13	0.262	0.623
Diuretika	6 (30%)	8 (40%)	15 (71%)	0.507	0.008	0.043

Beta-Blocker	8 (40%)	11 (55%)	12 (57%)	0.342	0.272	0.89
Kalziumkanalantagonisten	5 (21%)	7 (35%)	9 (43%)	0.431	0.190	0.606
Aldosteronantagonisten	2 (10%)	2 (10%)	1 (5%)	1	0.520	0.520
Digitoxin	1 (5%)	1 (5%)	0 (0%)	1	0.3	0.3
Statine	10 (50%)	13 (65%)	12 (57%)	0.337	0.525	0.744
PPI	5 (25%)	7 (35%)	10 (48%)	0.490	0.133	0.346
Insulin	1 (5%)	1 (5%)	5 (23%)	1	0.929	0.929
OAD	1 (5%)	2 (10%)	5 (23%)	0,548	0.929	0.212
Heparin/ NMH	4 (20%)	6 (30%)	10 (48%)	0.465	0.062	0.248
Phenprocoumon/NOAK	9 (45%)	2 (10%)	0 (0%)	0.013	<0,001	0.137

Tbl. 1: Baseline characteristics der Patienten während ihres stationären Aufenthalts auf der Stroke-Unit.

3.1.1 ARA-induzierte Thrombozytenaggregation im Vergleich

Die Zugabe von ARA (1 mM) zum PRP der Gruppe A führte in 100% der Fälle zu einer Aggregation (n=20). Davon war in 80% der Fälle die Aggregation über 20% (cut-off) des geeichten Maximalwerts (Tbl. 2). Dabei lag der Mittelwert der Steigung bei 16,8 cm/min (SD 17,0 cm/min) und das maximum of aggregation (MoA) im Mittel bei 60,9% (SD 30,1 %) (Abb. 2; Abb. 3).

Im Gegensatz dazu aggregierten die Thrombozyten der Patienten, die nur mit ASS behandelt wurden, unter der Zugabe von ARA (1 mM) nur in 10% der Fälle (n=2) und keine Aggregation erreichte einen Wert über 20%. Dabei lag der Mittelwert der Steigung bei 0,4 cm/min (SD 1,2 cm/min) und das MoA bei 1,7% (SD 5,4%).

Es zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen, sowohl in der Anzahl der Aggregation (siehe Abb. 2; $p < 0,0001$), als auch bei der Steigung (Abb. 3; $p < 0,0001$) und dem MoA (Abb.3; $p < 0,001$).

Bei gleichem Versuchsablauf aggregierten Thrombozyten im PRP bei 61,9 % der Patienten, die mit Dipyron behandelt wurden (Gruppe C) und 38% aller Aggregationen erreichten Werte von über 20%. Verglichen mit Gruppe B wies die Anzahl der Aggregationen in der Dipyron Gruppe einen signifikanten Unterschied auf (Abb. 2; $p < 0,0001$). Die durchschnittliche Steigung der Aggregationskurve lag bei 5,4 cm/min (SD

6,90). Das MoA lag bei 23,9 % (SD 28,6 %) und unterschied sich damit ebenfalls signifikant von der Patientengruppe (Gruppe B), die nur mit ASS behandelt wurde ($p = 0,0016$). Die Ergebnisse dieser Messungen legen nahe, dass Dipyron die ASS-induzierte Aggregationshemmung der Thrombozyten aufheben kann.

Aggregationsstärke	Gruppe A	Gruppe B	Gruppe C
> 0%	100%	10%	61,9%
> 20%	80%	0%	38%

Tbl. 2: Anzahl der ARA-stimulierten Thrombozytenaggregationen, die über 0% und über 20% des geeichten Maximalwerts hinausgingen.

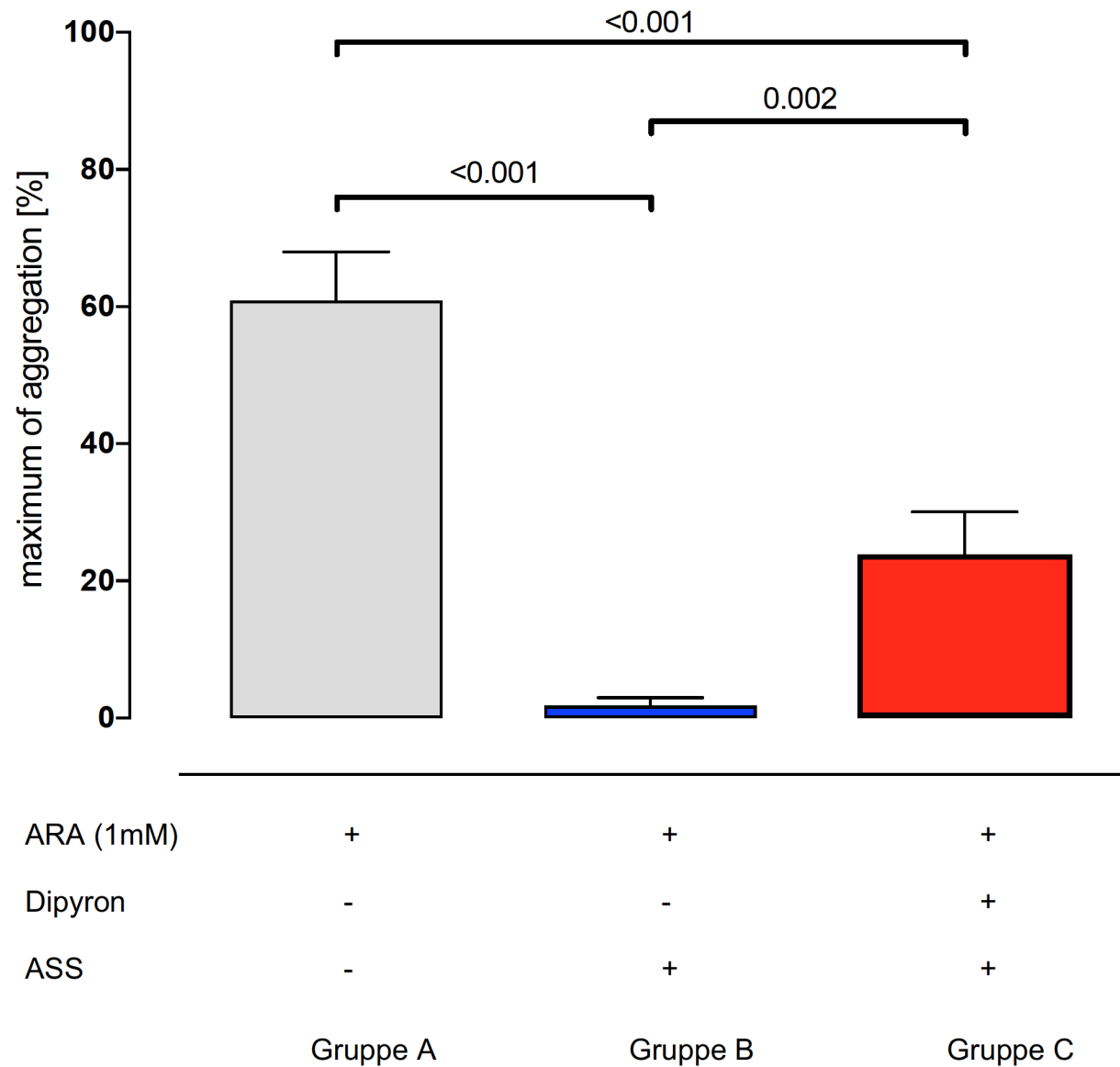


Abb. 2: Vergleich der MoA zwischen den Gruppen ohne in-vitro Zusatz von ASS. Signifikanter Unterschied zwischen Kontrollgruppe A und den beiden anderen Gruppen (t-Test).

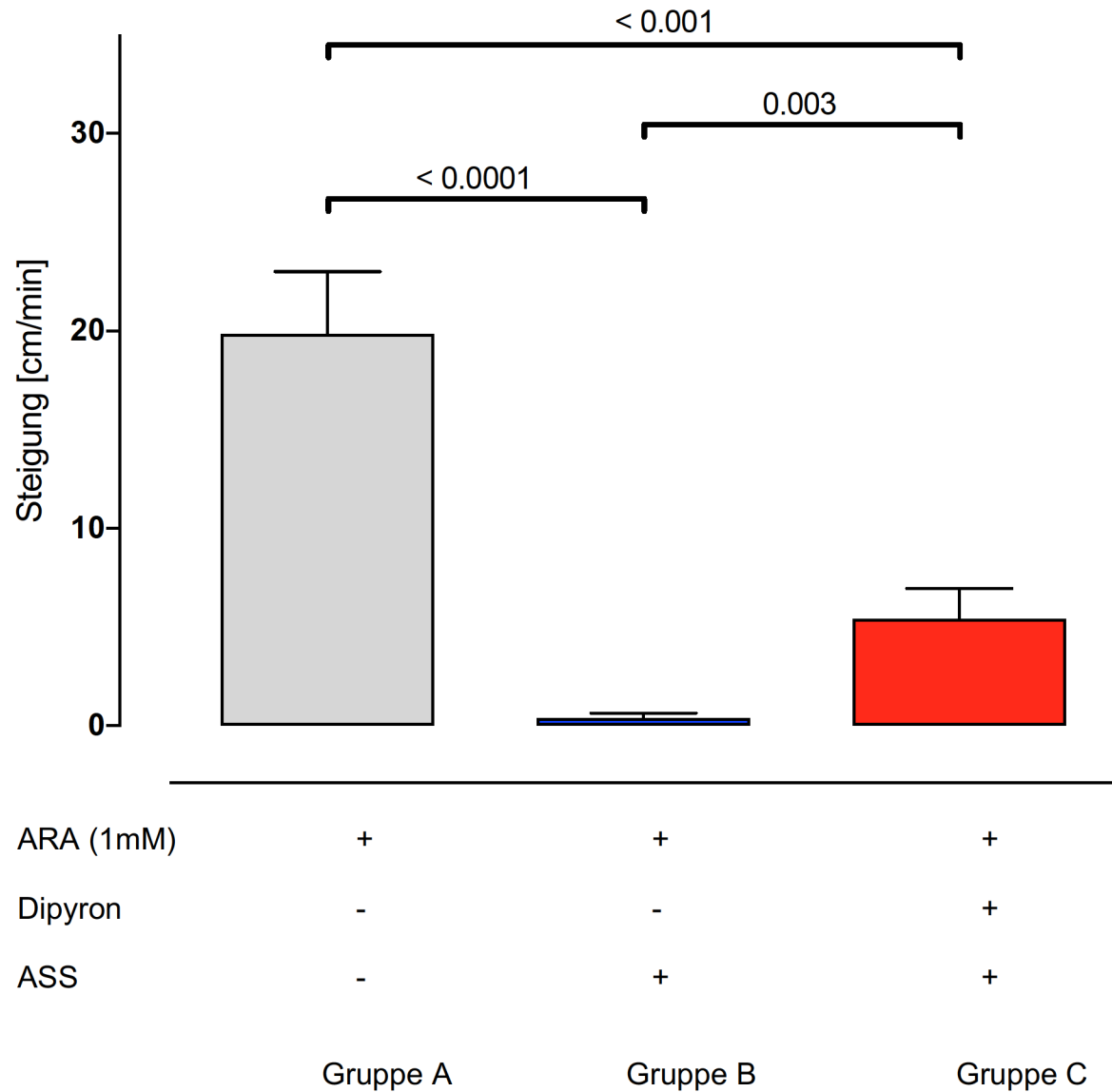


Abb. 3: Vergleich der Steigung der Aggregationskurve in cm/min zwischen den Gruppen ohne Zugabe von in-vitro ASS. Signifikanter Unterschied zwischen Kontrollgruppe A und den beiden anderen Gruppen (t-Test).

3.1.2 Thrombozytenfunktion nach Zugabe von ASS *in-vitro*

Durch die *in-vitro* Zugabe von 30 µM ASS und 100 µM ASS zu dem mit ARA (1 mM) aktivierten PRP sollte untersucht werden, inwieweit aktive Thrombozyten durchdefinierte ASS-Konzentrationen *in-vitro* gehemmt werden können.

In Gruppe A konnte ein ausgeprägter plättchenhemmender Effekt durch die *in-vitro* Zugabe von ASS festgestellt werden. So kam es nach *in-vitro* Zugabe von 30 µM ASS in nur noch 35% der Fälle (n=7) zur Aggregation der Thrombozyten. Dies stellt im Vergleich mit der Kontrollmessung (ohne Zugabe von ASS, s. Tbl. 3) eine signifikante Reduktion der Aggregationsanzahl dar ($p < 0.001$). Diese Beobachtung wurde durch die *in-vitro* Zugabe von 100 µM ASS in mit ARA vorbehandeltes PRP bestätigt. Es zeigte sich lediglich beim PRP eines Patienten eine weiterhin bestehende Aggregation (n=1; 5%).

In Gruppe B führte die *in-vitro* Zugabe von ASS bei einer Probe zu einer suffizienten Plättchenhemmung (n=1; 5%). Die Thrombozytenaggregation des zweiten Patienten, der trotz *in vivo* ASS Gabe eine Aggregation in der Thrombozytenaggregometrie zeigte, konnte weder durch die *in-vitro* Gabe von 30 µM ASS noch durch die Zugabe von 100 µM ASS *in-vitro* gehemmt werden.

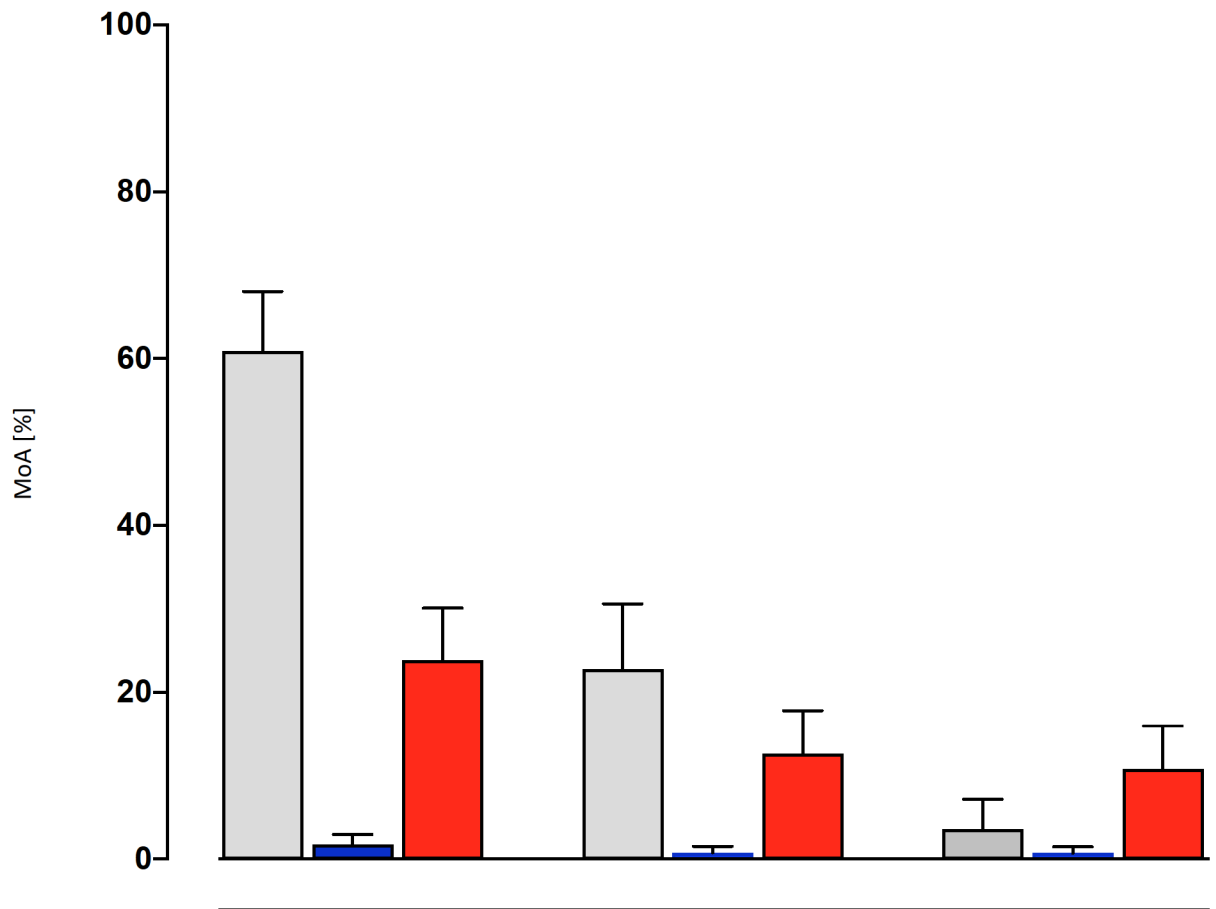
In der mit Dipyrone behandelten Patientengruppe (Gruppe C) bestand trotz Zugabe von 30 µM ASS oder 100 µM ASS *in-vitro* weiterhin in 30% der Fälle (n=6) eine Thrombozytenaggregation. Verglichen mit der Kontrollmessung ohne *in-vitro* ASS Zugabe, zeigte sich aber eine signifikante Zunahme der Thrombozytenhemmung ($p = 0,0019$). Eine erhöhte ASS Konzentration im Plasma reduzierte die „negative“ Interaktion von Dipyrone mit der low-dose ASS Therapie, jedoch konnte weiterhin in 6 von 13 (46,2%) Fällen durch ASS *in-vitro* keine suffiziente Plättchenhemmung erzielt werden (Tbl. 3).

Das durchschnittliche MoA änderte sich ebenfalls durch die *in-vitro* Zugabe von ASS. In Gruppe A reduzierte sich das MoA durch Zugabe von 30 µM ASS um 38,1% auf 22,7%. Die Zugabe von 100 µM ASS reduzierte die Thrombozytenaktivität auf einen durchschnittlichen MoA Wert von 3,6%. Verglichen mit der Kontrollmessung zeigte sich folglich eine Reduktion der durchschnittlichen MoA von 57,28%. Die Thrombozyten Dipyrone behandelter Patienten (Gruppe C) erwiesen sich als weniger sensitiv

gegenüber ASS *in-vitro*. Das durchschnittliche MoA reduzierte sich auf 12,6% (Zugabe von 30 µM ASS) bzw. 10,7% (Zugabe von 100 µM ASS), was einer Reduktion von 11,2,% und 13,1% entspricht. In Gruppe B führte sowohl die 30 µM als auch die 100 µM Zugabe von ASS zu einer durchschnittlichen MoA Reduktion von 1,7% auf 0,8% (Abb. 4).

Anzahl der Aggregationen	Gruppe A	Gruppe B	Gruppe C
Kontrolle	100%	10%	61,9%
30 µM ASS	35%	5%	30%
100 µM ASS	5%	5%	30%

Tbl. 3: Anzahl der Aggregationen der einzelnen Gruppen in der Kontrolle und nach Zugabe von 30 µM ASS und 100 µM ASS *in-vitro*.



ARA (1mM)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dipyrone	-	-	+	-	-	+	-	-	+
ASS in-vitro (µM)	-	-	-	30	30	30	100	100	100

Abb. 4: Maximum of aggregation (MoA) in der Kontrolle und nach Zugabe von 30 µM und 100 µM ASS in-vitro.

3.2 Kollagen-induzierte Thrombozytenaggregation im Vergleich

Um das Verhalten der Thrombozyten auf einen anderen plättchenaktivierenden Faktor zu überprüfen, wurde bei ansonsten gleichem Versuchsablauf 1 μ M ARA durch 2 μ g/ml Kollagen ersetzt.

Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die Anzahl der Thrombozytenaggregationen zwischen den Gruppen. In Gruppe A kam es nach Zugabe von Kollagen in 94,4% der Fälle zu einer Aggregation. Alle Aggregationen waren über 20% des geeichten Maximalwerts. In Gruppe B zeigten sich bei allen Proben Aggregationen mit Werten über 20%. In der Dipyron-behandelten Gruppe sorgte die Zugabe von Kollagen in 78,9% der Fälle für eine Plättchenaggregation, wovon 68,4% Aggregationswerte von über 20% erreichten.

Aggregationsstärke	A	B	C
> 0%	94,4%	100%	78,9%
> 20%	94,4%	100%	68,4%

Tbl. 4: Anzahl der Kollagen stimulierten Thrombozytenaggregationen die über 0% und über 20% des geeichten Maximalwerts hinausgingen.

Beim Vergleich der maximalen Aggregationsstärke (MoA) fanden sich signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (vgl. Abb. 5).

Patienten, die nicht mit ASS therapiert wurden (Gr. A), zeigten im Vergleich zu ASS-therapierten Patienten (Gr. B und C) ein signifikant höheres MoA mit einem Mittelwert von 64,03% (SD: 20,3%) nach Kollagenstimulation. Der Mittelwert des MoA lag hingegen bei Gruppe B bei 44,8% (SD: 26,39%) und bei Dipyron-und ASS-behandelten Patienten (Gr. C) bei 38,28 (SD: 28,4%), sodass kein signifikanter Unterschied der MoA zwischen den Patientengruppen bestand, die mit ASS therapiert wurden.

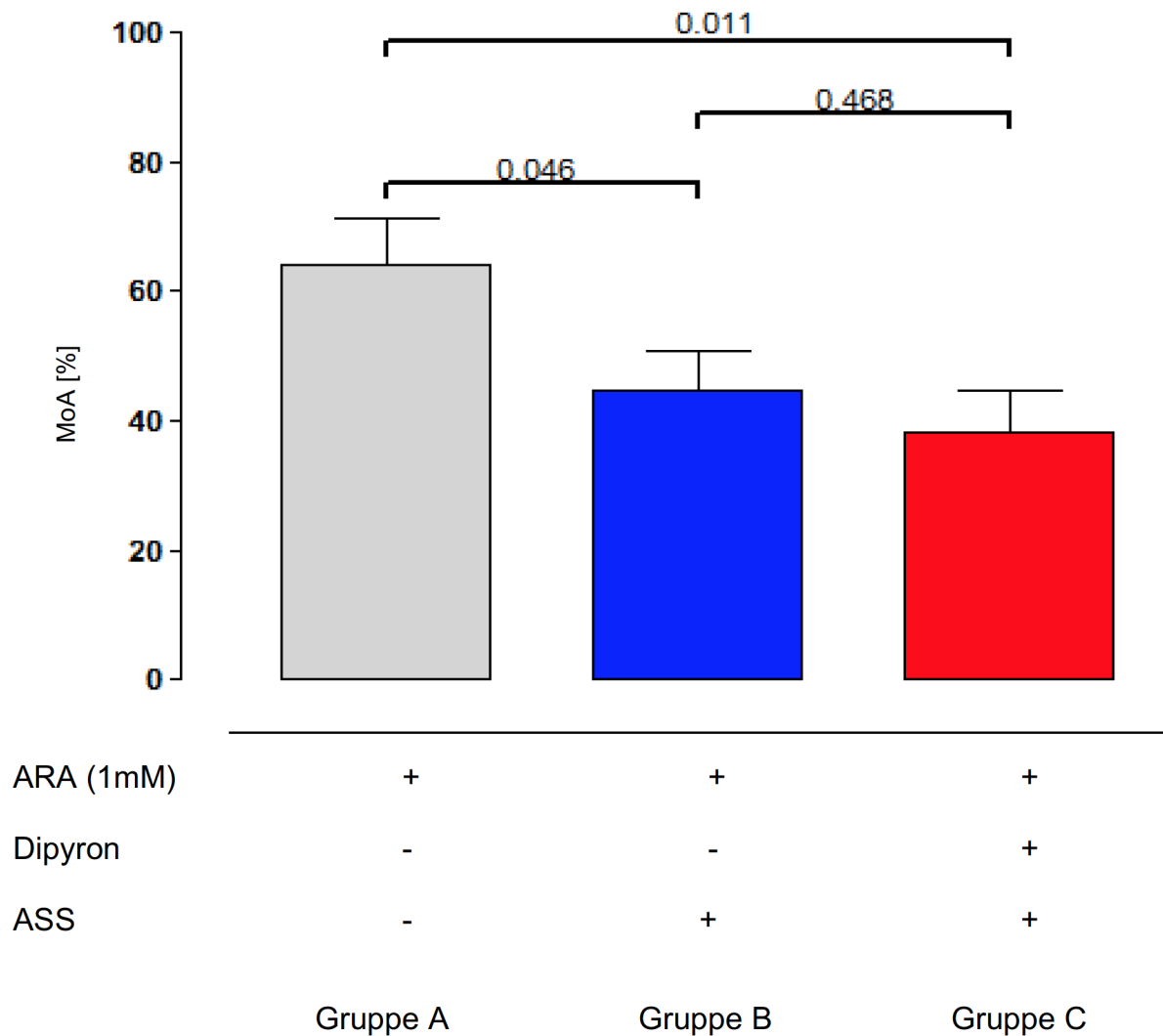


Abb. 5: Durchschnittliches MoA [%] der einzelnen Gruppen im Vergleich bei Stimulation mit 2 µg/ml Kollagen. Signifikanter Unterschied zwischen Kontrollgruppe A und den beiden anderen Gruppen (t-Test).

Auch die durchschnittlich gemessene Steigung [cm/min] der thrombozytären Aggregationskurven unter Kollagenstimulation zeigte ein ähnliches Resultat (vgl. Abb. 6). So konnte bei Patienten der Gruppe A eine durchschnittliche Steigung von 19,84 cm/min (SD: 13,4 cm/min) gemessen werden, die somit signifikant höher war als in den mit ASS behandelten Patientengruppe B und C. Zwischen den Patienten, die nur mit ASS therapiert wurden (Gr. B; Mittelwert: 9,74 cm/min; SD: 7,2 cm/min) und den

Patienten, die zusätzlich noch Dipyron einnahmen (Gr. C; Mittelwert: 7,78 cm/min; SD: 6,2 cm/min), bestand unter Kollagenstimulation kein signifikanter Unterschied in der durchschnittlichen Steigung der Aggregationskurven.

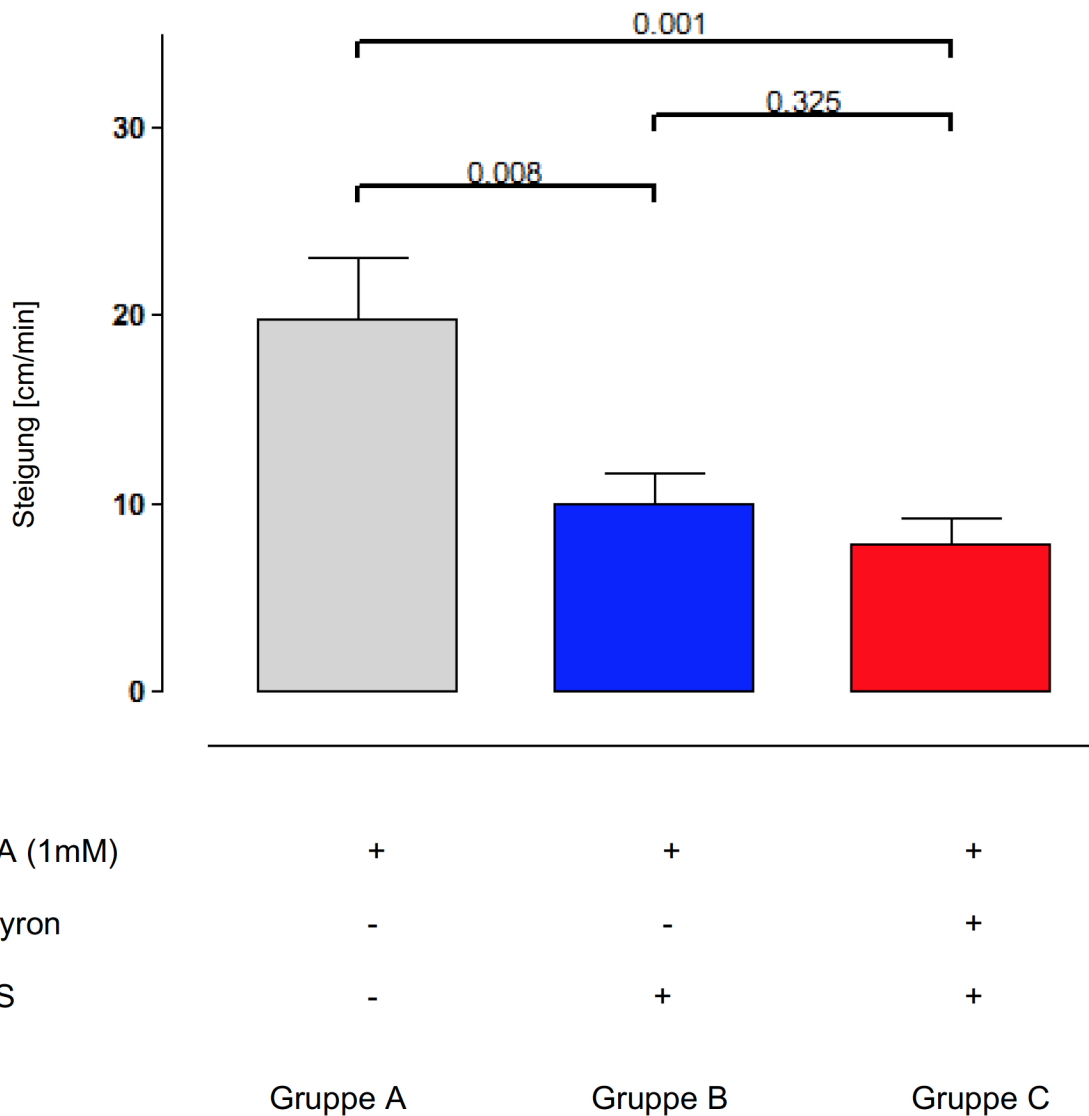


Abb. 6: Durchschnittliche Steigung [cm/min] der Aggregationskurven der einzelnen Gruppen im Vergleich bei Stimulation mit 2 µg/ml Kollagen. Signifikanter Unterschied zwischen Kontrollgruppe A und den beiden anderen Gruppen (t-Test).

3.3 Thromboxankonzentration im Gruppenvergleich

Im Anschluss an die mit 1 mM ARA stimulierte Thrombozytenaggregation wurde das aus Thrombozyten freigesetzte Thromboxan B₂ (TXB₂) nach ex-vivo Stimulation bestimmt. Dabei sollte untersucht werden, ob eine stärkere thrombozytäre Aktivität bzw. Aggregation mit einer erhöhten thrombozytären Thromboxansynthese korreliert. Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen der mit ASS behandelten Patientengruppe (Gruppe B) und der Patientengruppe, die nicht mit ASS therapiert wurden ($p = 0,003$; vgl. Abb.7). Im Mittel lag der Thromboxanspiegel der Gruppe A bei 166,1 ng/ml und damit 115,6 ng/ml über dem im Durchschnitt gemessenen TXB₂ Spiegel der Gruppe B. Die gemessenen Thromboxanwerte der mit Dipyron und ASS behandelten Patienten (Gr. C) entsprachen bei einem Mittelwert von 107 ng/ml, annähernd denen der Gruppe A ($p = 0,386$). Folglich zeigte sich auch ein signifikanter Unterschied der TXB₂ Spiegel zwischen Patienten, die mit ASS und analgetisch mit Dipyron behandelt wurden und denen, die ausschließlich ASS einnahmen. Eine hohe im Plasma gemessene TXB₂ Konzentration wie in Gruppe A korrelierte mit einer erhöhten Aggregationsfähigkeit der Thrombozyten (vgl. Tbl. 1). Eine effektive ASS-induzierte Plättchenhemmung, wie sie in Gruppe B vorzufinden war, ging hingegen mit niedrigeren TXB₂ Werten einher. Die Dipyronaufnahme reduzierte die ASS Wirkung (vgl. Tbl.1) und führte im Vergleich zu ASS ohne Dipyron zu einer höheren TXB₂ Synthese. Um zu prüfen, ob definierte ASS-Konzentrationen die thrombozytäre TXB₂ Synthese reduzieren können, gaben wir 30 µM und 100 µM ASS in vitro hinzu. In allen drei Gruppen kam es bereits nach Zugabe von 30 µM ASS zu einer deutlichen Abnahme der gemessenen TXB₂-Konzentrationen. Die größte absolute TXB₂ Reduktion konnte in der nicht mit ASS behandelten Patientengruppe festgestellt werden (Gr. A). In allen Gruppen konnte durch eine *in-vitro* Gabe von 100 µM ASS die TXB₂ Konzentration nochmals gesenkt werden. In der Dipyron behandelten Patientengruppe fiel durch die *in-vitro* ASS Gabe die TXB₂ Konzentration im Vergleich am geringsten ab. Der TXB₂ Wert sank durch die Zugabe von 30 µM ASS um 36,5%. Nach Zugabe von 100 µM ASS sank der Wert um 56,1% bezogen auf die Kontrollwerte

ohne *in-vitro* ASS Zugabe. Verglichen damit kam es durch die *in-vitro* ASS Gabe in der Kontrollgruppe (Gr. A) zu einer TXB₂ Reduktion von 65,1% /(30 µM ASS) und 89,6% (100µM ASS). In der ASS behandelten Gruppe (Gr. B) sanken die TXB₂ Werte signifikant um 74,3% und 92,1%, was die stärkste relative Reduktion des TXB₂ Konzentration darstellt.

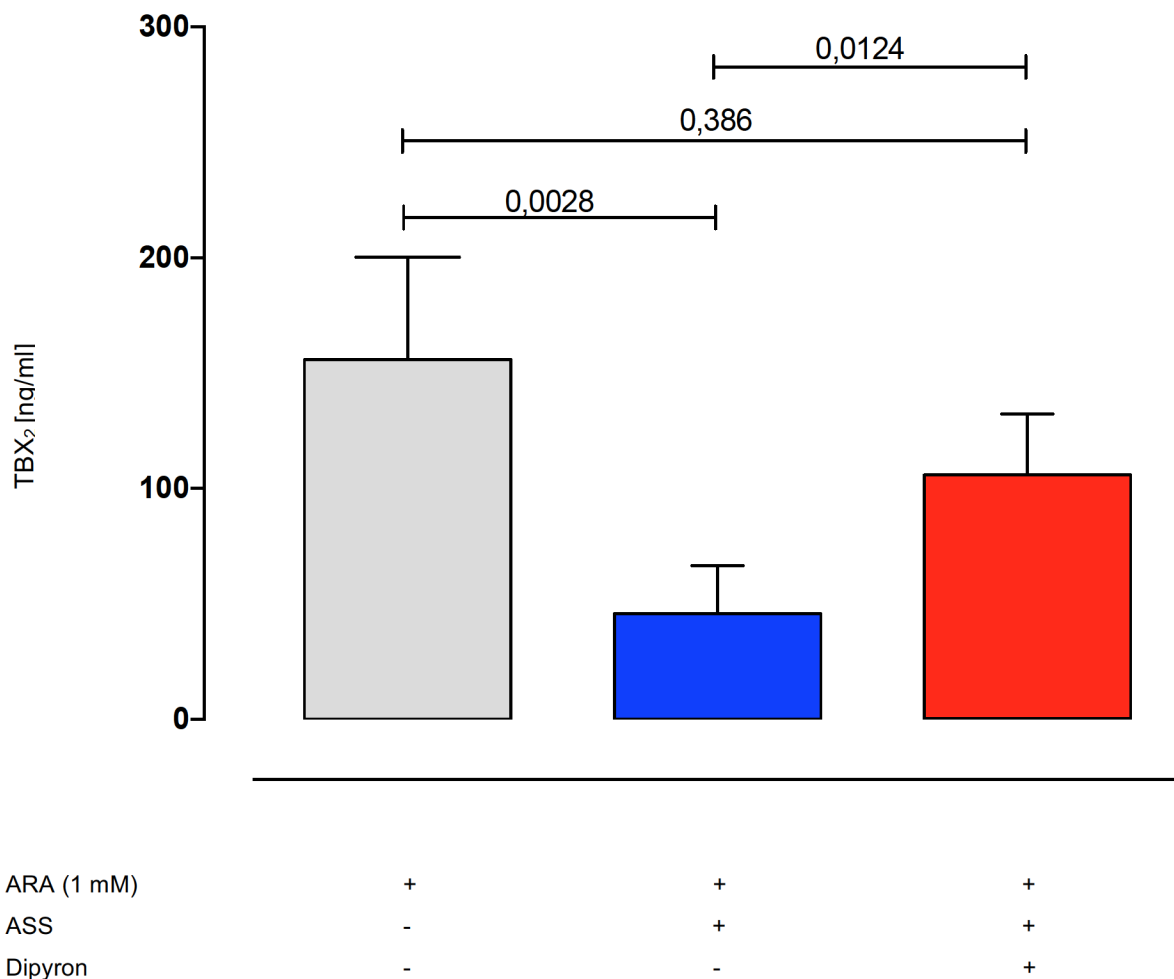


Abb.7: Vergleich der durchschnittlich gemessenen TXB₂ Spiegel im Plasma nach ARA stimulierter Thrombozytenaggregation zwischen den einzelnen Gruppen. Signifikanter Unterschied zwischen Kontrollgruppe A und den beiden anderen Gruppen (t-Test).

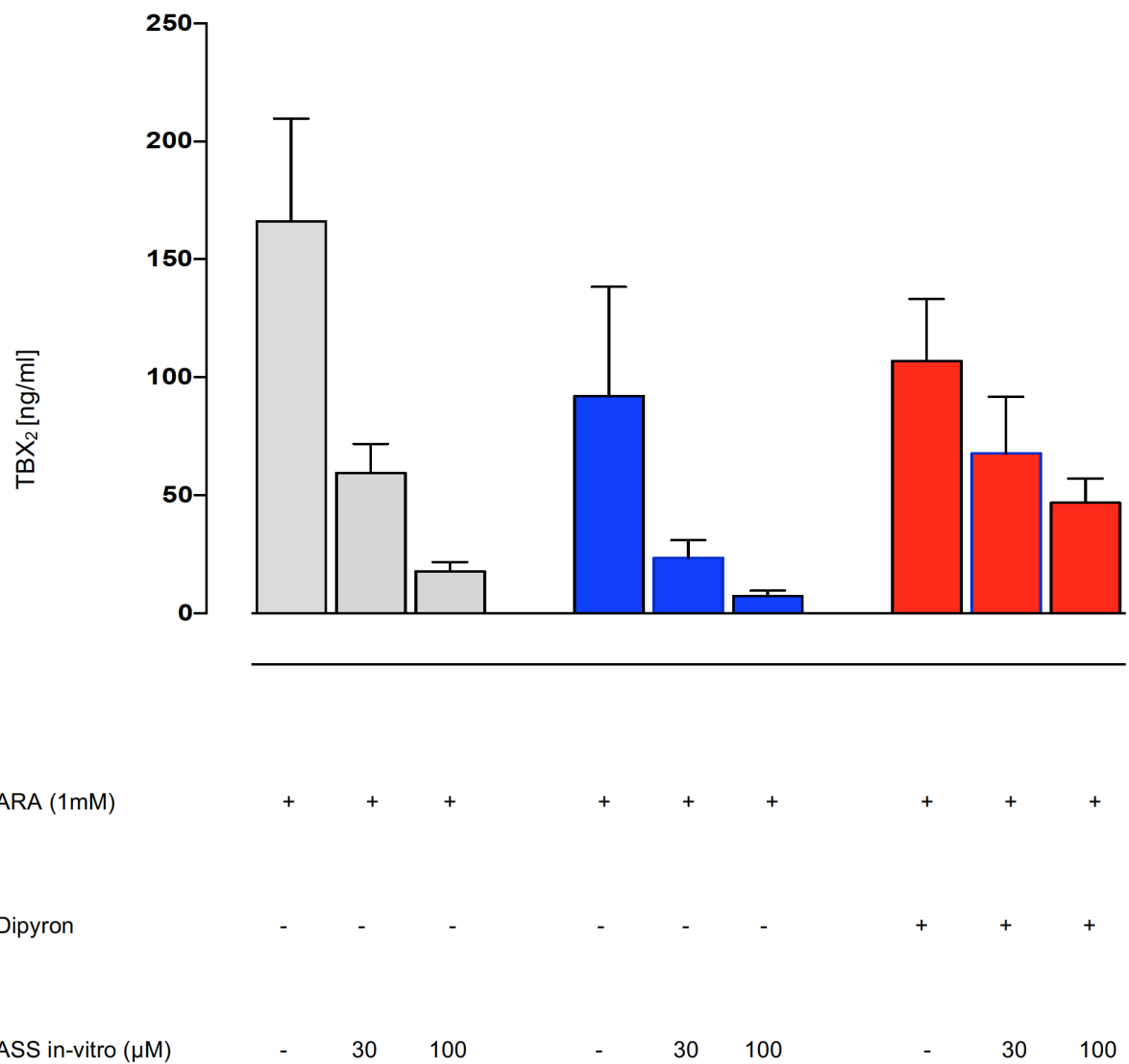


Abb. 8: Der Einfluss von in-vitro ASS (30µM u. 100µM) auf den TXB₂-Wert.

3.4 Das Outcome im Gruppenvergleich

3.4.1.1 Barthel Index bei Aufnahme und Entlassung

Die Erhebung des Barthel Index gab einen Aufschluss über den Allgemeinzustand der untersuchten Schlaganfallpatienten.

So zeigte die Patientengruppe, die nicht mit ASS behandelt wurde (Gr. A), ähnliche Ergebnisse des Barthel Index bei Aufnahme wie die Gruppe, die neben ASS auch Dipyrone erhalten hat (Gr. C). Im Gegensatz dazu zeigte die ausschließlich mit ASS behandelte Patientengruppe (Gr. B) einen um durchschnittlich 20 Punkte (vgl. Gr. A) bzw. 22,5 Punkte (vgl. Gr. C) höheren Barthel Index ($p = 0.088$; $p = 0.054$).

Um einen möglichen Therapieerfolg zu dokumentieren, wurde der Barthel Index auch bei der Entlassung der Patienten erhoben. Hier zeigte sich vor allem in der Gruppe A eine Veränderung des Barthel Index verglichen mit dem Aufnahmebefund. So stieg der durchschnittliche Barthel Index von 58 Punkten auf 80 Punkte.

Im Gegensatz dazu zeigten die anderen Gruppen keine signifikante Änderung des Barthel Index zwischen Aufnahme und Entlassung. Patienten, die nur mit ASS therapiert wurden (Gr. B), zeigten einen durchschnittlichen Anstieg des Barthel Index um 2 Punkte auf 81 Punkte, sodass der relativ hohe Barthel Index bei Aufnahme auch im Behandlungsverlauf fast konstant blieb.

Die mit Dipyrone behandelten Patienten wiesen kaum eine Verbesserung des Allgemeinzustands zwischen stationärer Aufnahme und Entlassung auf. Der durchschnittliche Barthel Index stieg um 2,4 Punkte auf 59,3 Punkte. Somit hatten Patienten, die analgetisch mit Dipyrone behandelt wurden, das schlechteste Outcome bezüglich ihres Allgemeinzustands. Außerdem zeigte der erhobene Barthel Index, dass Dipyrone-behandelte Patienten verglichen mit den anderen Gruppen nur eine minimale Verbesserung ihres Allgemeinzustands während des stationären Aufenthalts auf der Stroke-Unit aufwiesen.

3.4.1.2 Barthel Index im drei Monats Follow Up

Alle Gruppen zeigten annähernd konstante Werte des Barthel Index im 3-Monats-Follow-up verglichen mit den Werten bei Entlassung.

Der durchschnittliche Barthel Index der Gruppe A zeigte eine Abnahme im Follow-Up um weniger als einen Punkt auf 79 Punkte. Patienten, die nur mit ASS behandelt wurden, hatten drei Monate nach stationärer Entlassung den höchsten Barthel Index ($M = 90$) und zeigten eine Verbesserung um 4 Punkte in Bezug zum Entlassungsindex.

Auch die mit Dipyron therapierten Patienten zeigten eine leichte Verbesserung des Allgemeinzustands nach drei Monaten (M = 63,3; bei Entlassung M= 59,3). Weiterhin blieb aber der durchschnittliche Barthel Index der Dipyron-behandelten Patienten signifikant unter dem Durchschnitt der ausschließlich mit ASS behandelten Patienten (p=0.002).

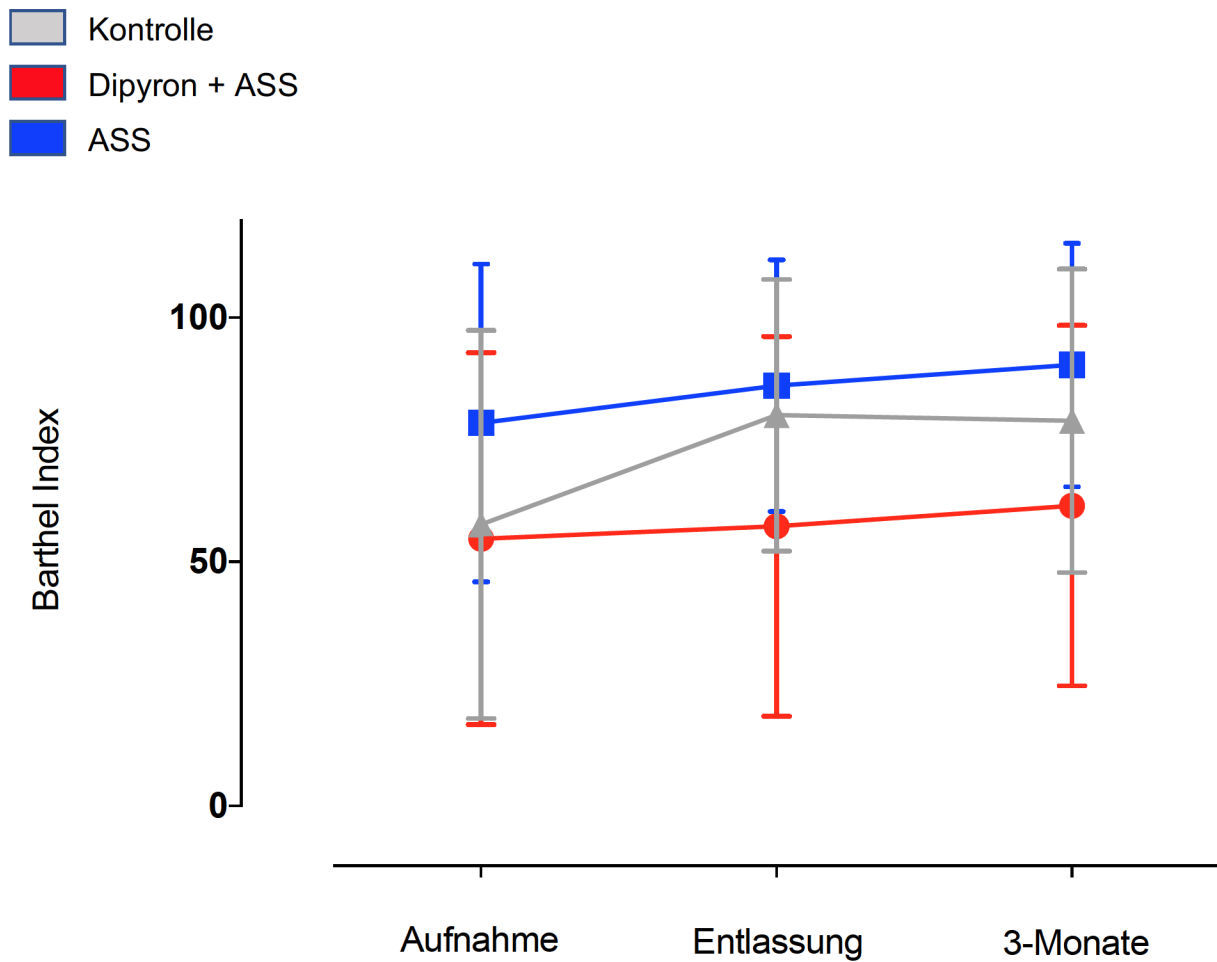


Abb. 9: Entwicklung des Allgemeinzustands der Patienten anhand des Barthel Index im Verlauf.

3.4.2 NIHSS bei Aufnahme und Entlassung

Um noch genauer die Folgen des Schlaganfalls zu dokumentieren und um den Verlauf beobachten zu können, wurde neben dem Barthel Index auch der NIHSS eruiert.

Dabei zeigte sich, dass die Patienten, die bei Aufnahme analgetisch mit Dipyron therapiert wurden, auch einen durchschnittlich höheren NIHSS Wert und somit klinisch schwerer vom Schlaganfall betroffen waren als Patienten, die ausschließlich mit ASS behandelt wurden ($p = 0,029$). Die Gruppe der Dipyron-behandelten Patienten zeigte auch als einzige Gruppe eine Zunahme des NIHSS von Aufnahme ($M = 6$) bis zur stationären Entlassung ($M = 8,8$). Somit verschlechterte sich der neurologische Status dieser Patienten während der stationären Behandlung ($p = 0,89$). Patienten, die ausschließlich mit ASS behandelt wurden (Gr. B), zeigten eine leichte Verbesserung des NIHSS von $M = 2,9$ auf $M = 2,1$ bei Entlassung ($p = 0,61$). Somit war der Unterschied der neurologischen Beeinträchtigungen zum Zeitpunkt der Entlassung zwischen den ASS-behandelten Patienten und den Dipyron-behandelten Patienten größer als zum Aufnahmezeitpunkt ($p = 0,11$). Patienten der Kontrollgruppe A zeigten von Aufnahme bis zur Entlassung einen deutlichen Abfall des NIHSS. Der durchschnittliche NIHSS sank dabei von 6,4 auf 2,9 ($p = 0,093$).

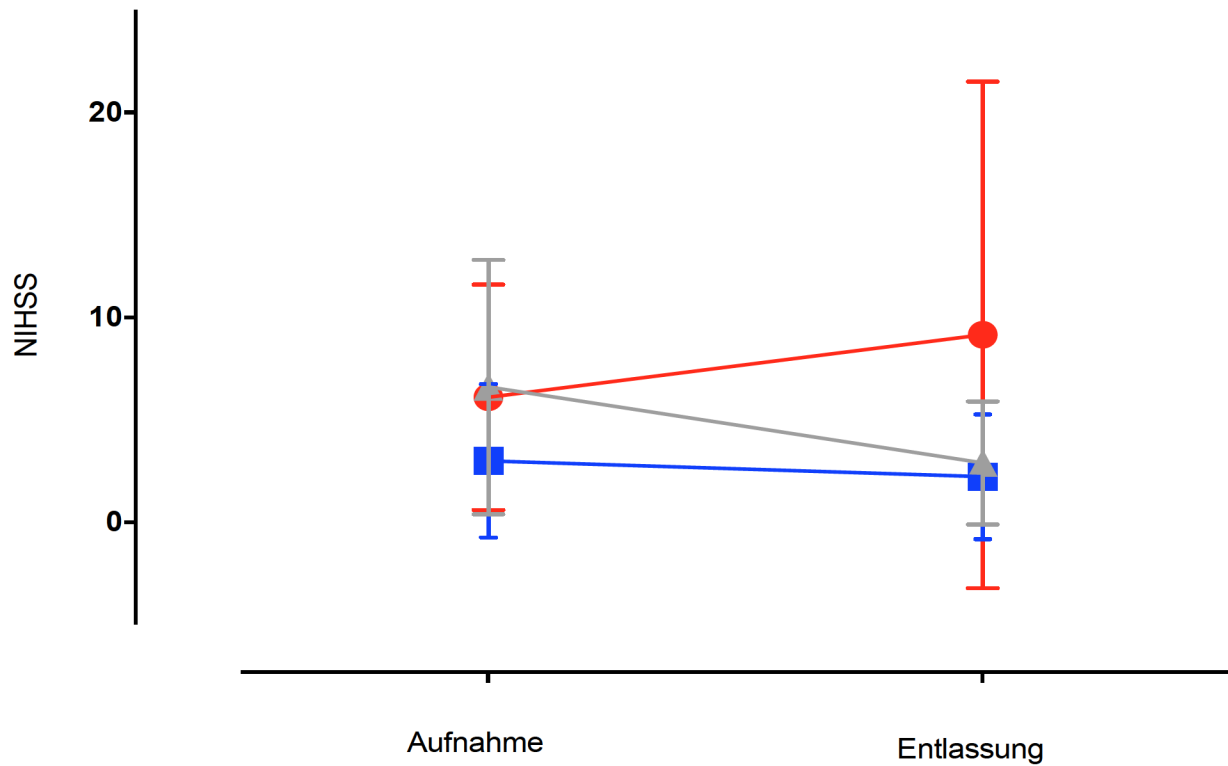
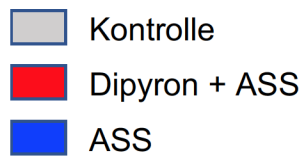


Abb. 10: Entwicklung des NIHSS von Aufnahme bis zur Entlassung der einzelnen Gruppen. Ein follow-up nach 3 Monaten erfolgte hier nicht, weil der NIHSS ein Scoresystem zur Beurteilung eines akuten Schlaganfalls ist und nur während des stationären Aufenthalts erhoben wird.

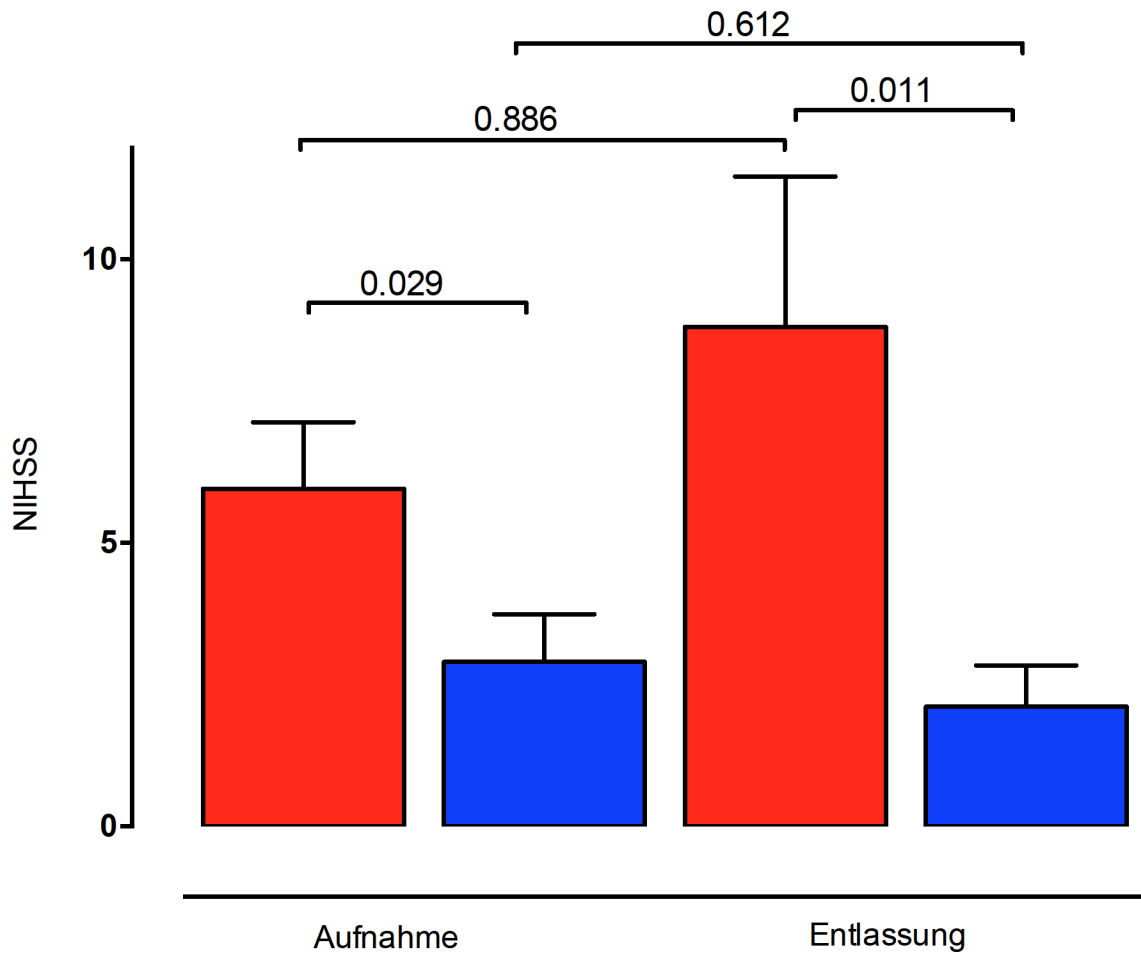


Abb. 11: Vergleich des NIHSS der mit Dipyrone+ ASS behandelten Patienten mit den ausschließlich mit ASS behandelten Patienten bei Aufnahme und Entlassung. Signifikanter Unterschied der Gruppen bei Aufnahme und Entlassung. Kein signifikanter Unterschied des NIHSS innerhalb der Gruppen zwischen Aufnahme und Entlassung (t-Test).

3.4.3 Die modifizierte Rankin-Skala bei Aufnahme, Entlassung und im 3-Monats Follow-Up

Als letzte Maßzahl zur Erfassung der neurologischen Beeinträchtigung wurde die mRS verwendet. Diese Skala reicht von 0 (keine Symptome) bis 6, was als Tod infolge des Schlaganfalls definiert ist.

Wie auch beim Barthel-Index und der NIHSS zeigte sich bei Patienten, die nach Aufnahme Dipyrone zur Analgesie bekommen haben, ein reduzierter neurologischer

Status im Vergleich zu den ausschließlich mit ASS behandelten Patienten der Gruppe B ($p = 0,54$). Patienten der Kontrollgruppe A hatten ebenfalls einen höheren mRS als ASS-behandelte Patienten ($p = 0,097$). Im Verlauf der stationären Behandlung kam es bei drei Dipyron behandelten Patienten trotz adäquater Therapie zum Todesfall, wodurch der durchschnittliche mRS in dieser Gruppe stieg. In den anderen Gruppen gab es während der stationären Behandlung insgesamt nur einen Todesfall (Gr. A). Es kam hier durchschnittlich zu einer neurologischen Verbesserung der Patienten mit abnehmenden Werten der mRS (vgl. Tbl.5; $p = 0,048$, $p = 0,264$). Im 3 Monats-Follow-Up blieben die Werte der mRS in der Dipyron-behandelten Patientengruppe konstant, wohingegen es in den anderen beiden Gruppen zur einer minimalen Reduktion des durchschnittlichen mRS Wertes kam ($p = 0,035$, $p = 0,13$).

	Entlassung	3-M-FU	Entlassung	3-M-FU	Entlassung	3-M-FU
Höhergradig beeinträchtigt + Schwer behindert, entsprechend mRS 4-5 [n]	3 15%	1 5%	2 10%	2 10%	4 19%	4 19%
Tod, mRS 6 [n]	0	1 5%	0	0	3 14%	3 14%

Tbl. 5: Überblick über schwere Behinderung und Tod in Folge des Schlaganfalls im Vergleich zwischen den Gruppen bei Entlassung und nach 3-Monaten nach Entlassung.

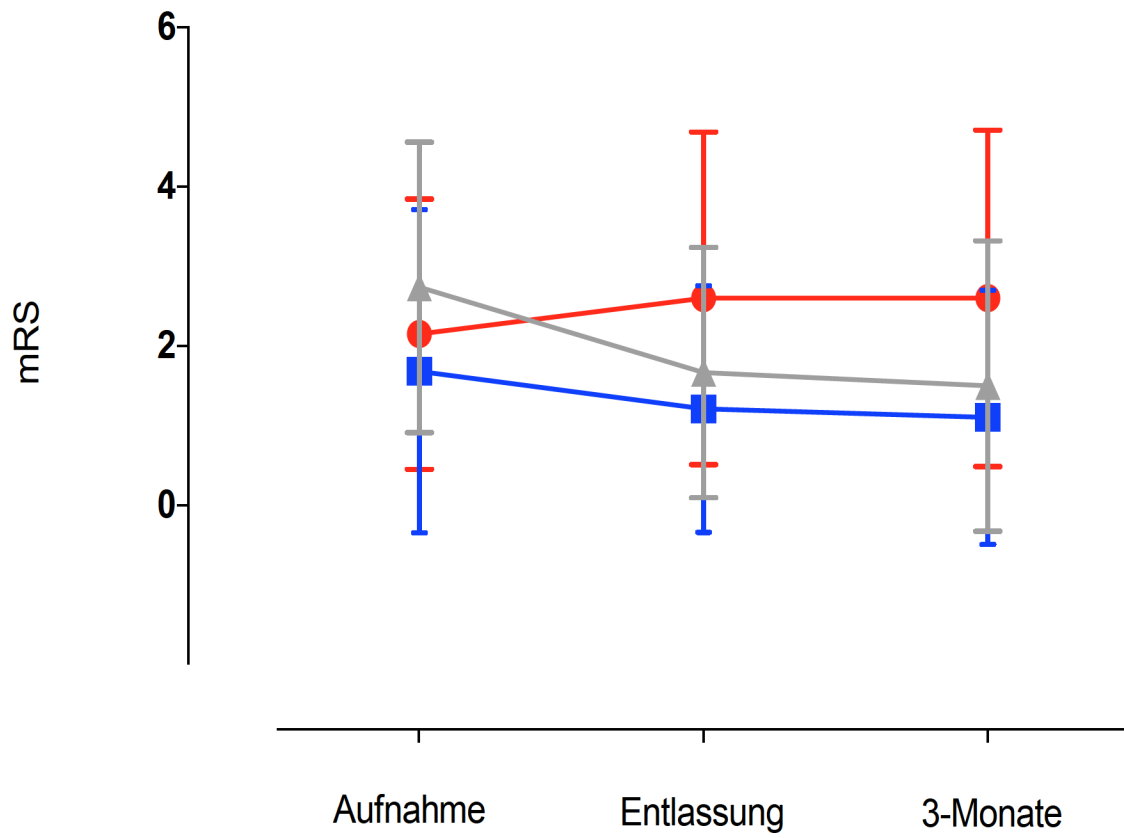


Abb. 12: Entwicklung der mRS im Verlauf.

4 Diskussion

4.1 Bedeutung einer verminderten ASS Wirkung

Ein zentrales Ergebnis unserer Studie ist die Beobachtung, dass Dipyron behandelte Patientin eine verminderte ASS Wirkung aufweisen und Unterschiede im Outcome, verglichen mit den Kontrollgruppen, haben.⁶⁴

Viele Studien belegten bereits die enorme Bedeutung einer suffizienten Plättchenhemmung durch ASS zur Vermeidung zerebro- und kardiovaskulärer Ereignisse.^{1, 65} Eine suffiziente ASS Therapie mit vollständiger Hemmung der thromboxanabhängigen Aggregation, die bei über 60% der Dipyron behandelten Patienten nicht gegeben war (s. Tbl.2), verkleinert den Thrombus, verbessert die Blutzirkulation im ischämischen Hirnareal und reduziert grundsätzlich die Bildung von Plättchenaggregaten.⁶⁶ Außerdem könnte ASS mit seiner antiinflammatorischen und antioxidativen Wirkung eine neuroprotektive Funktion haben.^{66, 67} Große Metaanalysen mit 135.000 Patienten belegten die Wirksamkeit einer ASS Therapie in Bezug auf vaskuläre Ereignisse wie Myokardinfarkt, Schlaganfall und Tod. So konnte das Risiko eines Schlaganfalls bei Patienten mit hohem Risiko (u.a. durch bereits stattgehabte kardiovaskuläre oder zerebrovaskuläre Ereignisse) um 25% gesenkt werden. Eine dauerhafte low-dose ASS Einnahme über zwei Jahre führte bei 36 von 1000 Patienten zur Verhinderung eines erneuten Schlaganfalls.⁶⁸

Bereits ältere Studien zeigten den entscheidenden Einfluss von ASS zur Vermeidung ischämischer Schlaganfälle. Grottemeyer et al. untersuchten Patienten nach stattgehabtem ischämischen Schlaganfall und verglichen in der Zeit von zwei Jahren das Auftreten von vaskulären Endpunkten (Schlaganfall, Myokardinfarkt und Tod).

Anhand eines Thrombozytenaggregationsassays konnten die Autoren ASS-Responder von ASS Non-Respondern unterscheiden. Ein Drittel der Patienten reagierte nicht ausreichend auf die plättchenhemmende Wirkung des ASS (Non-Responder). Lediglich 4,4% (5 von 114 Patienten) der Patienten, die vaskuläre Endpunkte hatten, zeigten eine suffiziente thrombozytenfunktionshemmende ASS-Wirkung.

Demgegenüber hatten 40% der Non-Responder ein kardiovaskuläres Ereignis. Dieses Ergebnis belegt, dass eine unzureichende ASS Wirkung das Risiko für kardio- und zerebrovaskuläre Rezidivereignisse erhöht.⁶⁹ Insbesondere in der frühen Sekundärprophylaxe nach stattgehabter TIA scheint die Bedeutung der ASS Therapie lange Zeit unterschätzt worden zu sein. So konnten Rothwell et al. eine relative Risikoreduktion von 93% eines erneuten schwere oder tödlichen Schlaganfalls bei Patienten zeigen, die sofort mit ASS behandelt wurden im Gegensatz zu nicht mit ASS behandelten Patienten.⁷⁰ In unserem Patientenkollektiv zeigten sich im Verlauf unserer Studienbeobachtung vier Todesfälle, wovon drei in der mit Dipyron behandelten Patientengruppe auftraten. Von diesen drei Patienten hatten zwei Patienten eine insuffiziente ASS Wirkung.

Allerdings war die Patientenzahl unserer Studie nicht darauf angelegt, Unterschiede in der Mortalität zu detektieren. Die vorliegende Arbeit zeigt jedoch, dass eine verminderte ASS Wirkung mit dem neurologischen Outcome assoziiert ist (siehe dazu Abschnitt 4.4).

ASS ist, wie viele Studien belegen, ein essentieller Bestandteil in der Sekundärprophylaxe kardiovaskulärer Ereignisse. Darüber hinaus wird schon länger auch ein möglicher Stellenwert des ASS in der Primärprophylaxe diskutiert. Raju et al. werteten 9 randomisierte, kontrollierte Studien mit über 100.000 Teilnehmern aus und konnten feststellen, dass eine sekundärpräventive ASS-Einnahme, wie in der vorliegenden Studie untersucht, zu einer Risikoreduktion für vaskuläre Ereignisse und Tod führt.⁷¹ Es gibt auch Anhaltspunkte dafür, dass eine primärpräventive Einnahme von ASS zur Risikoreduktion für kardiovaskuläre Ereignisse, sogar bei Patienten ohne Risikofaktoren, führt.¹ Die vorliegende Arbeit befasst sich jedoch ausschließlich mit der Sekundärprävention von Schlaganfällen beschäftigt.

4.2 Einfluss von Analgetika auf die Wirkung von ASS

Die Mehrzahl der klinisch orientierten Studien zum Thema *ASS-Wirkung bei Analgetikaeinnahme* befassten sich mit einem kardiologischen Krankengut, insbesondere mit der koronaren Herzkrankheit. Einige dieser Arbeiten widmeten sich

auch der Interaktion von ASS mit NSAIDs. Insbesondere wurde die Interaktion von Ibuprofen mit ASS untersucht. So zeigte eine große Fallkontrollstudie mit über 1000 Patienten mit Myokardinfarkt und einer aus über 4000 Teilnehmern bestehenden Kontrollgruppe, dass die Kombination von ASS und NSAIDs, im Gegensatz zur alleinigen ASS-Einnahme, zu keiner Reduktion von kardiovaskulären Ereignissen führt.⁷² Eine große retrospektive Studie mit 7107 kardiovaskulär erkrankten Patienten zeigte einen zweifachen Anstieg der Gesamtmortalität von Patienten, die neben ASS auch noch mit Ibuprofen behandelt wurden.⁷³ Allerdings konnten andere Studien, wie z.B. eine retrospektive Studie mit über 8600 Patienten, keinen nachteiligen Effekt einer Ibuprofen/ASS Co-Medikation feststellen.⁷⁴ Letztere Studie weist jedoch Schwächen auf. So konnte unter anderem eine Noncompliance der Teilnehmer, sowie eine zusätzliche Einnahme von ASS als 'over the counter' (OTC)-Medikation und/oder anderen Analgetika nicht ausgeschlossen werden. Zusammenfassend lassen diese Ergebnisse auch insofern keine direkten Rückschlüsse auf die vorliegende Studie zu, da Dipyron im engeren Sinne kein NSAID ist, da diese Substanz (wie auch andere Pyrazolinone) nahezu keine antiinflammatorische Wirkung besitzt.

Vorgängerstudien aus unserem Labor konnten zeigen, dass Dipyron, insbesondere dessen aktiver Metabolit MAA, einen negativen Einfluss auf die plättchenhemmende Funktion von ASS hat. Molekulare Modellstudien mittels Computersimulation ('molecular modeling') zeigten die Grundlage dieser Interaktion: Dipyron bindet reversibel an die COX-1 in dem Bereich, welcher sich mit der ASS-Bindungsstelle überschneidet. Dabei wird verhindert, dass ASS an die aktive Seite der COX-1 gelangt und Thrombozyten irreversibel gehemmt werden.³ Hohlfeld et al. konnten 2008 *in-vitro* nachweisen, dass Dipyron (MAA) und auch andere Pyrazolinone einen negativen Einfluss auf die plättchenhemmende Wirkung von ASS *in-vitro* haben. So konnte die durch ARA wie auch durch Kollagen induzierte Thrombozytenaggregation unter dem Einfluss von Dipyron nicht durch ASS inhibiert werden. Ein direkter Einfluss von Dipyron auf die Thrombozytenaggregation bestand in Konzentrationen, welche mit ASS interagieren, nicht.⁵⁴

Im Anschluss daran untersuchten Polzin et al. die Interaktion von Dipyron und ASS bei KHK-Patienten. Dazu wurden, wie auch in unserer Studie, drei Gruppen an Patienten gewählt: Patienten, die weder ASS noch Dipyron einnahmen, Patienten, die nur ASS

einnahmen und Patienten, die beide Medikamente einnahmen. Dabei konnte festgestellt werden, dass die Thrombozytenaggregation der Gruppe ohne ASS nahezu der Gruppe entspricht, die mit Dipyron und ASS behandelt wurde. Daraus wurde geschlossen, dass eine Dipyron Co-Medikation vollständig die gerinnungshemmende Wirkung von ASS auch unter klinisch-therapeutischen Bedingungen aufheben kann. Diese Studie bestätigte insofern die zuvor von Hohlfeld et al. *in-vitro* gezeigte Dipyron-ASS Interaktion.⁴

Während die beschriebenen Arbeiten die ASS/Dipyron-Interaktion anhand der Thrombozytenfunktion und thrombozytären Thromboxansynthese nachwiesen, fehlen bisher Daten zum klinischen Outcome. Da ein direkter Rückschluss auf die klinischen Auswirkung aus solchen Surrogatparametern problematisch ist, sollten zukünftige Outcome—Studien die klinische Bedeutung dieser Interaktion klären.⁷⁵

Die vorliegende Studie hatte einen vergleichbaren Aufbau wie die von Polzin et al. im Jahr 2013 publizierte Studie, konzentrierte sich aber auf neurologische Schlaganfallpatienten und berücksichtigte auch das klinische Outcome der eingeschlossenen Patienten. Zunächst bestätigen die Ergebnisse unserer Thrombozytenaktivitätsmessungen auch bei Patienten nach Schlaganfall die von Polzin et al. publizierten Resultate (siehe Tbl. 2). Dies ist insofern interessant, als es sich beim akuten Schlaganfall um eine nicht identische Pathogenese handelt. Koronare Ereignisse basieren meist auf einem akuten thrombotischen Verschluss auf dem Boden einer atherosklerotischen Läsion. Die Genese eines Schlaganfalls ist hingegen vielfältiger. So kann es ebenfalls im Rahmen einer Makroangiopathie zu einer lokalen arteriellen Thrombose kommen und damit zu einer Minderperfusion bzw. zu einem Perfusionsversagen im betroffenen Hirnareal. Weiterhin können sich lokale Thromben lösen und arterio-arterielle Embolien verursachen. Weitere Ätiologien des ischämischen Schlaganfalls, wie kardioembolische Infarkte, die insbesondere bei Herzrhythmusstörungen wie Vorhofflimmern auftreten oder mikroangiopathische, lakunäre Infarkte, die mit Diabetes mellitus und arterieller Hypertonie assoziiert sind, werden unter den sogenannten TOAST Kriterien zusammengefasst.⁷⁶⁻⁷⁸

4.3 Unterschiede der Thrombozytenaktivität nach Kollagen-Stimulation

In unserer Studie nutzten wir zwei verschiedene Thrombozytenstimulantien: Arachidonsäure und Kollagen. Beide stimulieren Agonisten Tx-abhängig und können daher beide durch ASS (*in-vitro* und *in-vivo*) effektiv gehemmt werden. Bei ARA wird die Tx-Synthese überwiegend durch das exogene Substrat aktiviert, bei Kollagen wird ARA endogen über die aktivierte Phospholipasen bereitgestellt. Dies beeinflusste die Thrombozytenaktivität in unterschiedlichem Maße, was folglich zu der Frage führt, welche Ergebnisse bzw. welche Methode für zukünftige Studien geeigneter ist die Thrombozytenaktivität und eine ASS Wirkung zu untersuchen. Studien zeigten, dass eine fehlende oder verminderte ASS Wirkung durch eine erhöhte thrombozytäre Kollagensensitivität ausgelöst werden kann, sodass eine Kollagen ausgelöste Thrombozytenaggregation zukünftig sogar dazu geeignet wäre, ASS-Respondier von Non-Respondieren zu unterscheiden.⁷⁹ Andere Studien zeigen, dass eine verstärkte thrombozytäre Sensitivität auf Kollagen zu einer fehlenden ASS Wirkung führen kann.⁵³ Dennoch ist nach heutigem Stand die ARA induzierte Thrombozytenaggregation die etablierteste Methode eine mögliche verbliebende Plättchenaktivität unter ASS Therapie zu identifizieren. ARA ist das Substrat der COX-1, die durch ASS gehemmt wird. Dadurch gilt eine durch ARA stimulierte Thrombozytenaggregation, im Gegensatz zu Kollagen, als besonders spezifischer Test für die Wirksamkeit einer ASS Therapie und korreliert mit dem klinischen Outcome.^{80, 81} In unserer Studie zeigten sich in allen drei Gruppen eine verstärkte Thrombozytenaktivität nach Kollagenstimulation verglichen mit der ARA-induzierten Thrombozytenaggregation (vgl. Tbl.2 u. Tbl.4). Ursächlich hierfür ist der Tx- unabhängige Stimulationsmechanismus des Kollagens. Fraglich bleibt in unserer Studie aber der Nutzen dieser durch Kollagen verstärkten Thrombozytenaggregation. So zeigten alle Patienten der Gr. B (nur ASS) eine Aggregationsstärke von über 20% und lagen damit sogar höher als die mit Dipyron behandelte Patientengruppe. Da aber die mit ARA erzielten Ergebnisse, sowie das spätere klinische Outcome dem deutlich gegenüberstehen, stellt sich die Frage, ob eine Kollagen induzierte Thrombozytenaggregation brauchbare Ergebnisse liefern kann. Außerdem ist nur für eine ARA-induzierte Thrombozytenaktivität (high on-

treatment platelet reactivity; htp_r) ein Referenzwert (cut-off) definiert.⁸⁰ Der cut-off Wert von 20% der Maximalaggregation war auch in unserer Studie der Referenzwert, um Aggregationsstärken zu differenzieren (vgl. Tbl.2). Würde man die Ergebnisse der Tbl.4 solitär betrachten, müssten man folgern, dass kein Patient der Gr. B eine suffiziente ASS-Wirkung aufweist. Diese Vermutung kann aber, anhand der ARA Messreihe, der statistischen Wahrscheinlichkeit einer non-response und letztlich auch anhand des klinischen Outcome ausgeschlossen werden. Betrachtet man das durchschnittliche MoA und die Steigung nach Kollagenstimulation (vgl. Abb.6 u. Abb.7) erkennt man, dass Patienten, die keine ASS Medikation erhalten haben, höhere Werte des MoA und der Steigung der Aggregationskurve haben. Dies bestätigt die Thrombozytenfunktionshemmung durch ASS.⁷⁵ Dennoch ist das durchschnittliche MoA in der Dipyron behandelten Patientengruppe niedriger als in der ASS Gruppe. Dieses Ergebnis widerspricht den zuvor mit ARA erzielten Ergebnissen und auch die bereits erwähnten Vorgängerarbeiten zeigten, dass Dipyron einen negative Einfluss auf die plättchenhemmende Wirkung von ASS hat.⁴ Unter den aktuellen Bedingungen ließ sich unter Kollagenstimulation keine Tx-abhängige Thrombozytenaggregation messen, sodass sich hierbei keine valide Aussage zu einer Dipyron-ASS Interaktion treffen lässt. Die stimulatorische Potenz einer ex-vivo Kollagengabe scheint so stark zu sein, dass eine ASS non-response damit nicht mehr detektiert werden kann. Auf welcher Grundlage Gruppe B die meisten Plättchenaggregationen hatte, ist nicht nachvollziehbar und kann am ehesten, aufgrund eines begrenzten Patientenkollektivs, als zufälliges Phänomen gewertet werden.

4.4 Die Rolle von Thromboxan A₂ als Parameter der Thrombozytenaktivität und einer wirksamen ASS Therapie

Die Frage nach der Rolle des Thromboxan bezüglich eines erhöhten kardio- und zerebrovaskulären Risikos sowie der Zusammenhang zu einer ASS non-response ist

eine seit vielen Jahren bestimmende Kernfrage der Thrombozytenforschung. Eikelboom et al. konnten in einer fünfjährigen follow-up Studie einen Zusammenhang zwischen dem im Urin gemessenen TXB_2 Level und einem erhöhten Risiko für Myokardinfarkt, Schlaganfall und einen plötzlichen Herztod aufzeigen. So hatten Patienten der oberen TXB_2 -Quantile ein 1,8-fach erhöhtes Gesamtrisiko für ein kardio- oder zerebrovaskuläres Ereignis und ein 3,5-fach erhöhtes Risiko, einen plötzlichen Herztod zu erleiden. Aus diesen Ergebnissen folgerten die Wissenschaftler, dass Thromboxan ein klinisch bedeutsamer Biomarker sei, zur Identifikation von ASS Non-Respondern geeignet ist und ggf. Anlass für eine zusätzliche plättchenhemmenden Therapie sein könnte. Zur Bestimmung des Thromboxan maßen die Wissenschaftler die Urinausscheidung eines Tx-Metaboliten (11-dehydro-thromboxan-B₂) der Patienten.⁸² Bemerkenswerterweise konnten bei Patienten nach Schlaganfall oder seltener nach TIA allgemein erhöhte Serum- TXB_2 Werte gemessen werden.^{83, 84} Folglich wird postuliert, dass eine insuffiziente Plättchenhemmung das Risiko für einen Schlaganfall erhöht. Wie bereits erwähnt, stehen erhöhte TXB_2 -Serumkonzentrationen im Zusammenhang mit einer unzureichenden ASS Wirkung. So korrelierten unsere TXB_2 Messungen mit den unterschiedlichen thrombozytären Aggregationsverhalten zwischen den Gruppen (vgl. Tbl.2 u. Abb.7).

Es bestanden signifikante Unterschiede der gemessenen TXB_2 Plasmakonzentrationen zwischen der ASS Gruppe und Kontrollgruppe bzw. der Dipyron Gruppe (Abb.7). Dies bestätigte die Annahme, dass ein direkter Zusammenhang zwischen der TXB_2 Plasmakonzentration und der Aggregationsfähigkeit der Plättchen besteht. Weiterhin kann aber eine ASS Konzentrationssteigerung die TXB_2 Konzentration senken und damit die Thrombozytenaktivität hemmen.⁸⁵ Daher kann die Bestimmung der Tx-Plasmakonzentration mittels Thromboxanassay als spezifische Methode für die Prüfung einer plättchenhemmenden ASS Wirkung genutzt werden.⁸⁰ Auch unsere Studie konnte diese Annahme bestätigen: in allen drei Gruppen kam es durch *in-vitro* Zugabe von ASS zu einem Absinken der TXB_2 Konzentration im Serum, wobei eine 100 μM ASS *in-vitro* Gabe einen stärkeren Einfluss auf die TXB_2 Konzentration hatte als die niedrigere ASS Konzentration von 30 μM (vgl. Abb.8). Diese Ergebnisse

bestätigen, dass die ASS Plasmakonzentration negativ mit einer TXB₂ Synthese korreliert.⁸⁵ Eine erhöhte ASS Dosierung kann somit die TXB₂ Konzentration reduzieren und damit auch zu einer suffizienteren Thrombozytenaggregationshemmung führen (vgl. Abb.4 u. Abb.8), jedoch konnte Studien auch belegen, dass eine Steigerung des sekundärpräventiven ASS Einnahme auf über 50-160 mg/d bzw. 75-150 mg/d zu keinem weiteren Nutzen bezüglich einer suffizienteren Thrombozytenaggregationshemmung führt.^{86 68}

Wir konnten ebenfalls in unserer Studie bestätigen, dass eine parallele Einnahme von ASS und Dipyron, wie oben ausgeführt, die plättchenhemmende ASS Wirkung aufhebt und dass sich diese Interaktion auch anhand des gemessenen TXB₂ Werts bestätigen lässt.⁵⁴ Die in-vitro Zugabe von ASS zur Steigerung der ASS-Plasmakonzentration und somit zur Simulation einer erhöhten ASS Medikamenteneinnahme durch die Patienten zeigte eindeutig, dass in der Dipyron Gruppe eine ASS-Plasmakonzentrationssteigerung den geringsten Effekt auf die Senkung des TXB₂ Serumspiegels hatte (vgl. Abb. 9). Letztlich konnten wir damit zeigen, dass auch eine Konzentrationssteigerung des ASS, bei Patienten die parallel Dipyron einnehmen nur eine unzureichende Wirkung auf Thrombozytenaggregationshemmung hat. Gründe für die von Dipyron ausgelöste ASS Wirkblockade und die im Vergleich zu beiden anderen Gruppen hohen TXB₂ Spiegel nach *in-vitro* ASS Gabe gründen auf molekularpharmakologischen Mechanismen³, die in unserer Studie nicht weiter untersucht wurden.

4.5 Unterschiede im klinischen Outcome durch Einnahme von Dipyron

Wie bereits erwähnt, gingen unsere Untersuchungen, im Vergleich zu den Vorgängerstudien, weiter und konzentrierten sich nach den Thrombozytenaggregationsassays auf den klinischen Verlauf der Patienten in den folgenden drei Monaten. Wir erhoben bei allen Patienten den Barthel Index, der als valider Parameter für die Alltagsfähigkeiten von Patienten gilt.⁵⁵ Patienten, die bereits zu Beginn des stationären Aufenthalts Dipyron einnahmen, hatten einen

vergleichbaren Barthel Index wie die Kontrollgruppe ohne Dipyron und ASS. Die Patientengruppe, die bereits zum Aufnahmezeitpunkt mit ASS therapiert wurde (Gr.B), zeigte verglichen zu den beiden anderen Gruppen einen deutlich höheren Barthel Index. Aus diesem Ergebnis könnte man schließen, dass ASS therapierte Patienten weniger schwere zerebrovaskuläre Ereignisse erleiden. Man muss aber beachten, dass die Anzahl der TIA in der ASS Gruppe verglichen mit den anderen Gruppen (nicht-signifikant) höher war. Der Barthel Index stieg in dieser Gruppe von der Aufnahme über die Entlassung bis zu dem Drei-Monats-Follow-up. Dieses Ergebnis bestätigt Vermutungen, dass ASS die Rekonvaleszenz beschleunigt und das Infarktvolumen vermindern könnte.^{66, 87} Die zentrale Erkenntnis, die sich anhand des erhobenen Barthel Index zeigt, ist eine im Vergleich zur Kontrollgruppe deutlich geringere Verbesserung des Allgemeinzustands der Schlaganfallpatienten von der stationären Aufnahme bis zur Entlassung. Da beide Gruppen anfangs vergleichbare Werte hatten, stellt sich die Frage, warum die Kontrollgruppe eine deutlich ausgeprägtere Verbesserung im Allgemeinzustand im Vergleich zur Dipyron Gruppe zeigen konnte. Die Kontrollgruppe hatte zwar ein geringeres Durchschnittsalter, aber demgegenüber standen weniger TIA als in der Dipyron Gruppe. Auch die restlichen *baseline characteristics* (vgl. Tbl.1) geben keinen Aufschluss über mögliche Gründe für dieses Ergebnis. Die Werte beider Gruppen nähern sich im drei-Monats-Follow-up Wert zwar etwas an, dennoch bleibt die genannte Tendenz klar erkennbar. Nachfolgende Studien sollten die alleinige Dipyron Wirkung in Bezug auf die Genesung genauer eingehen.

Der zweite Score, der in unserer Studie erhoben und ausgewertet wurde, ist der NIHSS. Dieser verdeutlicht nochmals stärker die Annahme, dass eine Co-Medikation von ASS und Dipyron das Outcome der Patienten negativ beeinflusst. So zeigten Patienten, die bereits bei Aufnahme nur mit ASS behandelt wurden, einen niedrigeren Score und somit weniger gravierende Folgen des ischämischen Schlaganfalls.⁶² Im stationären Behandlungsverlauf bis zur Entlassung zeigte die ASS Gruppe Fortschritte in Bezug auf Bewusstsein, Motorik und Sprache. Dieses Studienergebnis unterstreicht die Erkenntnis, dass ASS einen günstigen Einfluss auf das Ausmaß, sowie das Outcome bei einem Schlaganfall nimmt. Demgegenüber steht aber eindeutig der Verlauf der Patienten, die neben ASS Dipyron zur Analgesie einnahmen. Dort

verschlechterte sich der NIHSS sogar im Zeitraum von der Aufnahme bis zur Entlassung (vgl. Abb. 11). Grund dafür könnte die fehlende ASS Wirkung sein (vgl. Tbl.2). So konnten Wilterdink et al. ebenfalls belegen, dass eine vorherige suffiziente ASS Therapie zu weniger schweren Schlaganfällen und mit niedrigerem NIHSS führt. Dies hatte, wie auch in unserer Studie gezeigt, einen entscheidenden Einfluss auf die Prognose und den Verlauf.⁸⁸ Gründe für einen besseren Verlauf der Patienten mit alleiniger ASS Therapie könnte auch die häufig diskutierte neuroprotektive Wirkung des ASS sein.^{66, 67, 89} Da in unserer Studie bei über 60% der Dipyron behandelten Patienten keine durch ASS induzierte, suffiziente Thrombozytenaggregationshemmung vorlag, muss man davon ausgehen, dass auch weitere Effekte, wie u.a. eine Neuroprotektion durch ASS bei diesen Patienten aufgehoben oder zumindest vermindert war. Auch die ebenfalls von uns erhobenen Ergebnisse zum mRS bestätigten, dass Dipyron behandelte Patienten ein im Vergleich zu beiden anderen Gruppen schlechteres Outcome haben (vgl. Abb. 12). Wie bereits beim Barthel Index beobachtet, stellt sich auch hier die Frage, warum die Kontrollgruppe, die kein ASS erhielt, eine Verbesserung der mRS im Verlauf zeigte und die Dipyron Gruppe in Folge schwerer von den Schlaganfällen betroffen war. Eine mögliche Erklärung wäre die Hypothese, dass Analgetika-bedürftige Patienten häufiger Begleiterkrankungen aufweisen, die einer Analgesie bedürfen. Unsere Studie liefert dafür jedoch keine Anhaltspunkte. Ein signifikanter Unterschied bezüglich Medikation und Begleiterkrankungen lagen zwischen den Gruppen ist in unserer Studie nicht zu vor (vgl. Tbl.1).

4.6 Konsequenzen und Alternativen einer analgetischen Therapie

Die Frage, ob NSAID-Analgetika zu einer erhöhten Inzidenz von Schlaganfällen führen, ist seit vielen Jahren Gegenstand wissenschaftlicher Diskussionen. Nadareishvili et al. untersuchten den Zusammenhang von rheumatoider Arthritis einschließlich deren

Therapie und einem erhöhten Schlaganfallrisiko. Für die Behandlung mit Rofecoxib konnten die Wissenschaftler ein erhöhtes Risiko für Schlaganfälle detektieren.⁹⁰ Auch ein negativer Einfluss von selektiven COX-2 Hemmern auf die plättchenhemmende Wirkung von ASS konnte in mehreren Studien nachgewiesen werden. So kann die gleichzeitige Einnahme von ASS und Celecoxib die Thrombozytenaggregation um bis zu 15% steigern.⁹¹ Coxibe binden an ein Monomer der COX-1 und blockieren damit die COX-1 Bindungsstelle für das ASS.⁹² Andere Studien konnten hingegen keine relevante Interaktion von Celecoxib und ASS nachweisen.^{93,94} Auch Rofecoxib zeigte bei gesunden Studienteilnehmern keine relevante Interaktion mit ASS.⁹⁵ Eine andere, viel beachtete Studie zeigte aber eine deutliche Zunahme von Myokardinfakten und ischämischen Schlaganfällen bei einer mit Rofecoxib behandelten Patientengruppe mit kolorektalen Adenomen. Das relative Risiko für kardio- und zerebrovaskuläre Ereignisse war bei dieser Gruppe 1,92-fach erhöht, was letztlich zur weltweiten Marktrücknahme von Rofecoxib führte. Daher sollten nach aktueller Leitlinienempfehlung Coxibe bei Patienten mit erhöhtem Schlaganfallrisiko nicht verschrieben werden.⁹⁶ Hohlfeld et al. untersuchten verschiedene NSAID bezüglich einer möglichen Interaktion mit ASS. Dabei konnte durch Untersuchungen der Thrombozytenfunktion wie auch Bestimmung der thrombozytären TXB₂ - Freisetzung festgestellt werden, dass häufig verordnete Analgetika wie Ibuprofen und Naproxen mit ASS interagieren.³ Ibuprofen erhöht die Gesamtmortalität und das Risiko für kardio- und zerebrovaskuläre Ereignisse.⁷³ Gengo et al. konnten darüber hinaus zeigen, dass eine parallele Einnahme von Ibuprofen oder Naproxen und ASS das klinische Outcome von Schlaganfallpatienten deutlich verschlechtert. Während einer Verlaufsbeobachtung zeigten sich hier bei 72% der Patienten, die Ibuprofen oder Naproxen zusätzlich zu ASS einnahmen, erneute zerebrale ischämische Ereignisse. Die Studie schloss allerdings eine relativ kleine Kohorte von Patienten ein und es wurde keine follow-up Untersuchung bei der gesunden Probandengruppe durchgeführt.⁹⁷ Eine möglicherweise günstige Alternative zu den genannten Analgetika stellt Diclofenac dar. So zeigten *in-vitro* Studien keine Interaktion mit ASS und damit einen potentiellen Vorteil gegenüber Ibuprofen bei der Behandlung von Schmerzen bei Patienten mit erhöhtem Risiko für vaskuläre Ereignisse.^{3,98} Jedoch zeigen neuere Untersuchungen, dass insbesondere Diclofenac per se das Risiko für Herzinsuffizienz

und arterielle Hypertonie steigern kann.⁹⁹ Verglichen mit den genannten NSAIDs ist das Risiko einer Verminderung der ASS-Plättchenhemmung durch Interaktion bei Dipyron höher. Piroxicam wies ebenfalls ein sehr hohes Potenzial für Interaktion mit ASS auf.³

Polzin et al. konnten in ihrer Arbeit jedoch zeigen, dass der Einnahmezeitpunkt von ASS und Dipyron entscheidend für eine suffiziente Thrombozytenhemmung ist. So führte eine orale ASS-Dosis von 100 mg 30 Minuten vor der Dipyron Einnahme zu keiner verminderten Plättchenhemmung.¹⁰⁰

Zusammengefasst stellt die Analgesie von Patienten nach Schlaganfall eine schwierige Aufgabe der Neurologie dar. Zum jetzigen Zeitpunkt kann man sagen, dass Dipyron eine problematische Wahl zur Analgesie bei kardiovaskulären Risikopatienten, die ASS einnehmen, darstellen kann. Jedoch weisen auch andere Analgetika zum Teil große Nachteile auf, so dass momentan keine sichere Empfehlung zur Analgesie bei Schlaganfallpatienten gegeben werden kann. Man sollte insbesondere bei der Gruppe der NSAIDs die Gefahr gastrointestinaler Ulzerationen bedenken.¹⁰¹ Falls Dipyron nicht ersetzbar erscheint, sollte möglicherweise die von Polzin et al. empfohlene zeitliche Abfolge der Medikamenteneinnahme befolgt werden.¹⁰⁰ Grundsätzlich gilt, dass besonders im oftmals hektischen stationären Setting die medikamentöse Analgesie von Schlaganfallpatienten individuell und mit besonderer Sorgfalt und Aufmerksamkeit erfolgen sollte.

5 Literatur

1. Raju N, Sobieraj-Teague M, Hirsh J, O'Donnell M and Eikelboom J. Effect of aspirin on mortality in the primary prevention of cardiovascular disease. *The American journal of medicine*. 2011;124:621-9.
2. Garcia S, Canionero M and Lopes G. Dipyron-induced granulocytopenia: a case for awareness. *Pharmacotherapy*. 2006;26:440-2.
3. Hohlfeld T, Saxena A and Schror K. High on treatment platelet reactivity against aspirin by non-steroidal anti-inflammatory drugs--pharmacological mechanisms and clinical relevance. *Thrombosis and haemostasis*. 2013;109:825-33.
4. Polzin A, Zeus T, Schror K, Kelm M and Hohlfeld T. Dipyron (metamizole) can nullify the antiplatelet effect of aspirin in patients with coronary artery disease. *Journal of the American College of Cardiology*. 2013;62:1725-6.
5. Kolominsky-Rabas PL, Sarti C, Heuschmann PU, Graf C, Siemonsen S, Neundoerfer B, Katalinic A, Lang E, Gassmann KG and von Stockert TR. A prospective community-based study of stroke in Germany--the Erlangen Stroke Project (ESPro): incidence and case fatality at 1, 3, and 12 months. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 1998;29:2501-6.
6. Wiesner G, Grimm J and Bittner E. [Stroke: prevalence, incidence, trends, East-West comparison. Initial results of the 1998 Federal Health Survey]. *Gesundheitswesen*. 1999;61 Spec No:S79-84.
7. Carolei A, Marini C, Di Napoli M, Di Gianfilippo G, Santalucia P, Baldassarre M, De Matteis G and di Orio F. High stroke incidence in the prospective community-based L'Aquila registry (1994-1998). First year's results. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 1997;28:2500-6.
8. Seshadri S, Beiser A, Kelly-Hayes M, Kase CS, Au R, Kannel WB and Wolf PA. The lifetime risk of stroke: estimates from the Framingham Study. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2006;37:345-50.
9. Stewart JA, Dundas R, Howard RS, Rudd AG and Wolfe CD. Ethnic differences in incidence of stroke: prospective study with stroke register. *BMJ*. 1999;318:967-71.
10. Lawes CM, Rodgers A, Bennett DA, Parag V, Suh I, Ueshima H, MacMahon S and Asia Pacific Cohort Studies C. Blood pressure and cardiovascular disease in the Asia Pacific region. *J Hypertens*. 2003;21:707-16.
11. Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, Peto R, Collins R and Prospective Studies C. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet*. 2002;360:1903-13.
12. Wolf PA, Abbott RD and Kannel WB. Atrial fibrillation as an independent risk factor for stroke: the Framingham Study. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 1991;22:983-8.
13. Khoury JC, Kleindorfer D, Alwell K, Moomaw CJ, Woo D, Adeoye O, Flaherty ML, Khatri P, Ferioli S, Broderick JP and Kissela BM. Diabetes mellitus: a risk factor for ischemic stroke in a large biracial population. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2013;44:1500-4.
14. Davis PH, Dambrosia JM, Schoenberg BS, Schoenberg DG, Pritchard DA, Lilienfeld AM and Whisnant JP. Risk factors for ischemic stroke: a prospective study in Rochester, Minnesota. *Ann Neurol*. 1987;22:319-27.

15. Amarenco P, Goldstein LB, Szarek M, Sillese H, Rudolph AE, Callahan A, 3rd, Hennerici M, Simunovic L, Zivin JA, Welch KM and Investigators S. Effects of intense low-density lipoprotein cholesterol reduction in patients with stroke or transient ischemic attack: the Stroke Prevention by Aggressive Reduction in Cholesterol Levels (SPARCL) trial. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2007;38:3198-204.
16. Wannamethee SG, Shaper AG, Whincup PH and Walker M. Smoking cessation and the risk of stroke in middle-aged men. *JAMA*. 1995;274:155-60.
17. Guo F and Garvey WT. Cardiometabolic disease risk in metabolically healthy and unhealthy obesity: Stability of metabolic health status in adults. *Obesity (Silver Spring)*. 2015.
18. Bauters F, Rietzschel ER, Hertegonne KB and Chirinos JA. The Link Between Obstructive Sleep Apnea and Cardiovascular Disease. *Curr Atheroscler Rep*. 2016;18:1.
19. Sudano I and Nagele M. [Blood Pressure Lowering for Prevention and Treatment of Stroke: Recommendations of the Current European Guidelines]. *Praxis (Bern 1994)*. 2015;104:789-94.
20. Yeo LL, Paliwal P, Teoh HL, Seet RC, Chan BP, Liang S, Venketasubramanian N, Rathakrishnan R, Ahmad A, Ng KW, Loh PK, Ong JJ, Wakerley BR, Chong VF, Bathla G and Sharma VK. Timing of recanalization after intravenous thrombolysis and functional outcomes after acute ischemic stroke. *JAMA Neurol*. 2013;70:353-8.
21. von Kummer R, Holle R, Rosin L, Forsting M and Hacke W. Does arterial recanalization improve outcome in carotid territory stroke? *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 1995;26:581-7.
22. Wrotek SE, Kozak WE, Hess DC and Fagan SC. Treatment of fever after stroke: conflicting evidence. *Pharmacotherapy*. 2011;31:1085-91.
23. Capes SE, Hunt D, Malmberg K, Pathak P and Gerstein HC. Stress hyperglycemia and prognosis of stroke in nondiabetic and diabetic patients: a systematic overview. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2001;32:2426-32.
24. De Schryver EL, Gorter JW, Algra A and van Gijn J. [Prevention of vascular complications after cerebral ischemia of arterial origin. European Stroke and Australian Stroke Prevention in Reversible Ischemia Trial (ESPRIT): moderated coagulation, aspirin-dipyridamole combination or aspirin alone?]. *Rev Med Interne*. 1999;20:397-9.
25. Shahidi S, Owen-Falkenberg A, Gottschalksen B and Ellemann K. Risk of early recurrent stroke in symptomatic carotid stenosis after best medical therapy and before endarterectomy. *Int J Stroke*. 2016;11:41-51.
26. Diener HC, Bogousslavsky J, Brass LM, Cimminiello C, Csiba L, Kaste M, Leys D, Matias-Guiu J, Rupprecht HJ and investigators M. Aspirin and clopidogrel compared with clopidogrel alone after recent ischaemic stroke or transient ischaemic attack in high-risk patients (MATCH): randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2004;364:331-7.
27. Lip GY, Frison L, Grind M and Investigators S. Stroke event rates in anticoagulated patients with paroxysmal atrial fibrillation. *J Intern Med*. 2008;264:50-61.
28. Weimar C, Holle DN, Benemann J, Schmid E, Schminke U, Haberl RL, Diener HC, Goertler M and German Stroke Study C. Current management and risk of recurrent stroke in cerebrovascular patients with right-to-left cardiac shunt. *Cerebrovasc Dis*. 2009;28:349-56.
29. Karttunen V, Hiltunen L, Rasi V, Vahtera E and Hillbom M. Factor V Leiden and prothrombin gene mutation may predispose to paradoxical embolism in subjects with patent foramen ovale. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2003;14:261-8.

30. Messe SR, Silverman IE, Kizer JR, Homma S, Zahn C, Gronseth G, Kasner SE and Quality Standards Subcommittee of the American Academy of N. Practice parameter: recurrent stroke with patent foramen ovale and atrial septal aneurysm: report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*. 2004;62:1042-50.
31. O'Gara PT, Messe SR, Tuzcu EM, Catha G, Ring JC, American Heart A, American Stroke A and American College of Cardiology F. Percutaneous device closure of patent foramen ovale for secondary stroke prevention: a call for completion of randomized clinical trials. A science advisory from the American Heart Association/American Stroke Association and the American College of Cardiology Foundation. *Journal of the American College of Cardiology*. 2009;53:2014-8.
32. Mas JL, Derumeaux G, Amarenco P, Arquizan C, Aubry P, Barthelet M, Bertrand B, Brochet E, Cabanes L, Donal E, Dubois-Rande JL, Durand-Zaleski I, Ernande L, Finet G, Fraisse A, Giroud M, Guerin P, Habib G, Juliard JM, Leys D, Lievre M, Lussan JR, Marcon F, Michel P, Moulin T, Mounier-Vehier F, Pierard L, Piot C, Rey C, Rodier G, Roudaut R, Schleich JM, Teiger E, Turc G, Vuillier F, Weimar C, Woimant F, Chatellier G and investigators C. Close: Closure of patent foramen ovale, oral anticoagulants or antiplatelet therapy to prevent stroke recurrence: Study design. *Int J Stroke*. 2016;11:724-32.
33. Saver JL, Carroll JD, Thaler DE, Smalling RW, MacDonald LA, Marks DS, Tirschwell DL and Investigators R. Long-Term Outcomes of Patent Foramen Ovale Closure or Medical Therapy after Stroke. *N Engl J Med*. 2017;377:1022-1032.
34. Sondergaard L, Kasner SE, Rhodes JF, Andersen G, Iversen HK, Nielsen-Kudsk JE, Settergren M, Sjostrand C, Roine RO, Hildick-Smith D, Spence JD, Thomassen L and Gore RCSI. Patent Foramen Ovale Closure or Antiplatelet Therapy for Cryptogenic Stroke. *N Engl J Med*. 2017;377:1033-1042.
35. A randomized trial of anticoagulants versus aspirin after cerebral ischemia of presumed arterial origin. The Stroke Prevention in Reversible Ischemia Trial (SPIRIT) Study Group. *Ann Neurol*. 1997;42:857-65.
36. Mohr JP, Thompson JL, Lazar RM, Levin B, Sacco RL, Furie KL, Kistler JP, Albers GW, Pettigrew LC, Adams HP, Jr., Jackson CM, Pullicino P and Warfarin-Aspirin Recurrent Stroke Study G. A comparison of warfarin and aspirin for the prevention of recurrent ischemic stroke. *N Engl J Med*. 2001;345:1444-51.
37. Lyrer P and Engelter S. Antithrombotic drugs for carotid artery dissection. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2004;35:613-4.
38. Amarenco P, Bogousslavsky J, Callahan A, 3rd, Goldstein LB, Hennerici M, Rudolph AE, Silesen H, Simunovic L, Szarek M, Welch KM, Zivin JA and Stroke Prevention by Aggressive Reduction in Cholesterol Levels I. High-dose atorvastatin after stroke or transient ischemic attack. *N Engl J Med*. 2006;355:549-59.
39. Baigent C, Keech A, Kearney PM, Blackwell L, Buck G, Pollicino C, Kirby A, Sourjina T, Peto R, Collins R, Simes R and Cholesterol Treatment Trialists C. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet*. 2005;366:1267-78.
40. O'Donnell MJ, Diener HC, Sacco RL, Panju AA, Vinisko R, Yusuf S and Investigators PR. Chronic pain syndromes after ischemic stroke: PROFESS trial. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2013;44:1238-43.

41. Kong KH, Woon VC and Yang SY. Prevalence of chronic pain and its impact on health-related quality of life in stroke survivors. *Arch Phys Med Rehabil.* 2004;85:35-40.
42. Sackley C, Brittle N, Patel S, Ellins J, Scott M, Wright C and Dewey ME. The prevalence of joint contractures, pressure sores, painful shoulder, other pain, falls, and depression in the year after a severely disabling stroke. *Stroke; a journal of cerebral circulation.* 2008;39:3329-34.
43. Jonsson AC, Lindgren I, Hallstrom B, Norrving B and Lindgren A. Prevalence and intensity of pain after stroke: a population based study focusing on patients' perspectives. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2006;77:590-5.
44. Kondo I, Hosokawa K, Soma M, Iwata M and Maltais D. Protocol to prevent shoulder-hand syndrome after stroke. *Arch Phys Med Rehabil.* 2001;82:1619-23.
45. Poduri KR. Shoulder pain in stroke patients and its effects on rehabilitation. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 1993;3:261-6.
46. Kalita J, Vajpayee A and Misra UK. Comparison of prednisolone with piroxicam in complex regional pain syndrome following stroke: a randomized controlled trial. *QJM.* 2006;99:89-95.
47. Andersen G, Vestergaard K, Ingeman-Nielsen M and Jensen TS. Incidence of central post-stroke pain. *Pain.* 1995;61:187-93.
48. Klit H, Finnerup NB and Jensen TS. Central post-stroke pain: clinical characteristics, pathophysiology, and management. *Lancet Neurol.* 2009;8:857-68.
49. MacGowan DJ, Janal MN, Clark WC, Wharton RN, Lazar RM, Sacco RL and Mohr JP. Central poststroke pain and Wallenberg's lateral medullary infarction: frequency, character, and determinants in 63 patients. *Neurology.* 1997;49:120-5.
50. Gonzales GR. Central pain: diagnosis and treatment strategies. *Neurology.* 1995;45:S11-6; discussion S35-6.
51. Leijon G, Boivie J and Johansson I. Central post-stroke pain--neurological symptoms and pain characteristics. *Pain.* 1989;36:13-25.
52. Dworkin RH, O'Connor AB, Backonja M, Farrar JT, Finnerup NB, Jensen TS, Kalso EA, Loeser JD, Miaskowski C, Nurmikko TJ, Portenoy RK, Rice AS, Stacey BR, Treede RD, Turk DC and Wallace MS. Pharmacologic management of neuropathic pain: evidence-based recommendations. *Pain.* 2007;132:237-51.
53. Hohlfeld T, Weber AA, Junghans U, Schumacher M, Boucher M, Schror K and Siebler M. Variable platelet response to aspirin in patients with ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis.* 2007;24:43-50.
54. Hohlfeld T, Zimmermann N, Weber AA, Jessen G, Weber H, Schror K, Holtje HD and Ebel R. Pyrazolinone analgesics prevent the antiplatelet effect of aspirin and preserve human platelet thromboxane synthesis. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH.* 2008;6:166-73.
55. Mahoney FI and Barthel DW. Functional Evaluation: The Barthel Index. *Maryland state medical journal.* 1965;14:61-5.
56. Heuschmann PU, Kolominsky-Rabas PL, Nolte CH, Hunermund G, Ruf HU, Laumeier I, Meyrer R, Alberti T, Rahmann A, Kurth T and Berger K. [The reliability of the german version of the barthel-index and the development of a postal and telephone version for the application on stroke patients]. *Fortschritte der Neurologie-Psychiatrie.* 2005;73:74-82.
57. Jankowska A, Krekora K, Klimkiewicz R, Kubsik A, Klimkiewicz P and Woldanska-Okonska M. [Comparison of the effects of rehabilitation in stroke patients rehabilitated in

- stationary conditions and the home]. *Polski merkuriusz lekarski : organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego*. 2014;37:331-4.
58. Diederichs C, Muhlenbruch K, Lincke HO, Heuschmann PU, Ritter MA and Berger K. Predictors of dependency on nursing care after stroke: results from the Dortmund and Munster stroke registry. *Deutsches Arzteblatt international*. 2011;108:592-9.
 59. van Swieten JC, Koudstaal PJ, Visser MC, Schouten HJ and van Gijn J. Interobserver agreement for the assessment of handicap in stroke patients. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 1988;19:604-7.
 60. Eissa A, Krass I and Bajorek BV. Optimizing the management of acute ischaemic stroke: a review of the utilization of intravenous recombinant tissue plasminogen activator (tPA). *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*. 2012;37:620-9.
 61. Born GV. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature*. 1962;194:927-9.
 62. Weber AA, Liesener S, Schanz A, Hohlfield T and Schror K. Habitual smoking causes an abnormality in platelet thromboxane A2 metabolism and results in an altered susceptibility to aspirin effects. *Platelets*. 2000;11:177-82.
 63. Pradelles P, Grassi J and Maclouf J. Enzyme immunoassays of eicosanoids using acetylcholine esterase as label: an alternative to radioimmunoassay. *Anal Chem*. 1985;57:1170-3.
 64. Dannenberg L, Erschoff V, Bonner F, Gliem M, Jander S, Levkau B, Kelm M, Hohlfield T, Zeus T and Polzin A. Dipyron comedication in aspirin treated stroke patients impairs outcome. *Vascul Pharmacol*. 2016;87:66-69.
 65. Guirguis-Blake JM, Evans CV, Senger CA, Rowland MG, O'Connor EA and Whitlock EP. *Aspirin for the Primary Prevention of Cardiovascular Events: A Systematic Evidence Review for the US Preventive Services Task Force* Rockville (MD); 2015.
 66. Zheng AS, Churilov L, Colley RE, Goh C, Davis SM and Yan B. Association of aspirin resistance with increased stroke severity and infarct size. *JAMA Neurol*. 2013;70:208-13.
 67. Gomes I. Aspirin: a neuroprotective agent at high doses? *Natl Med J India*. 1998;11:14-7.
 68. Antithrombotic Trialists C. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ*. 2002;324:71-86.
 69. Grotemeyer KH, Scharafinski HW and Husstedt IW. Two-year follow-up of aspirin responder and aspirin non responder. A pilot-study including 180 post-stroke patients. *Thromb Res*. 1993;71:397-403.
 70. Rothwell PM, Algra A, Chen Z, Diener HC, Norrving B and Mehta Z. Effects of aspirin on risk and severity of early recurrent stroke after transient ischaemic attack and ischaemic stroke: time-course analysis of randomised trials. *Lancet*. 2016;388:365-75.
 71. Antithrombotic Trialists C, Baigent C, Blackwell L, Collins R, Emberson J, Godwin J, Peto R, Buring J, Hennekens C, Kearney P, Meade T, Patrono C, Roncaglioni MC and Zanchetti A. Aspirin in the primary and secondary prevention of vascular disease: collaborative meta-analysis of individual participant data from randomised trials. *Lancet*. 2009;373:1849-60.
 72. Kimmel SE, Berlin JA, Reilly M, Jaskowiak J, Kishel L, Chittams J and Strom BL. The effects of nonselective non-aspirin non-steroidal anti-inflammatory medications on the risk

of nonfatal myocardial infarction and their interaction with aspirin. *Journal of the American College of Cardiology*. 2004;43:985-90.

73. MacDonald TM and Wei L. Effect of ibuprofen on cardioprotective effect of aspirin. *Lancet*. 2003;361:573-4.

74. Fischer LM, Schlienger RG, Matter CM, Jick H and Meier CR. Current use of nonsteroidal antiinflammatory drugs and the risk of acute myocardial infarction. *Pharmacotherapy*. 2005;25:503-10.

75. Schror K, Huber K and Hohlfeld T. Functional testing methods for the antiplatelet effects of aspirin. *Biomarkers in medicine*. 2011;5:31-42.

76. Ridolfi RL and Hutchins GM. The relationship between coronary artery lesions and myocardial infarcts: ulceration of atherosclerotic plaques precipitating coronary thrombosis. *Am Heart J*. 1977;93:468-86.

77. Sacco RL, Benjamin EJ, Broderick JP, Dyken M, Easton JD, Feinberg WM, Goldstein LB, Gorelick PB, Howard G, Kittner SJ, Manolio TA, Whisnant JP and Wolf PA. American Heart Association Prevention Conference. IV. Prevention and Rehabilitation of Stroke. Risk factors. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 1997;28:1507-17.

78. Adams HP, Jr., Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL and Marsh EE, 3rd. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 1993;24:35-41.

79. Kawasaki T, Ozeki Y, Igawa T and Kambayashi J. Increased platelet sensitivity to collagen in individuals resistant to low-dose aspirin. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2000;31:591-5.

80. Temperilli F, Rina A, Massimi I, Montemari AL, Guarino ML, Zicari A and Pulcinelli FM. Arachidonic acid-stimulated platelet tests: Identification of patients less sensitive to aspirin treatment. *Platelets*. 2015;26:783-7.

81. Kasmeridis C, Apostolakis S and Lip GY. Aspirin and aspirin resistance in coronary artery disease. *Curr Opin Pharmacol*. 2013;13:242-50.

82. Eikelboom JW, Hirsh J, Weitz JI, Johnston M, Yi Q and Yusuf S. Aspirin-resistant thromboxane biosynthesis and the risk of myocardial infarction, stroke, or cardiovascular death in patients at high risk for cardiovascular events. *Circulation*. 2002;105:1650-5.

83. van Kooten F, Ciabattoni G, Koudstaal PJ, Dippel DW and Patrono C. Increased platelet activation in the chronic phase after cerebral ischemia and intracerebral hemorrhage. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 1999;30:546-9.

84. Koudstaal PJ, Ciabattoni G, van Gijn J, Nieuwenhuis HK, de Groot PG, Sixma JJ and Patrono C. Increased thromboxane biosynthesis in patients with acute cerebral ischemia. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 1993;24:219-23.

85. Patrignani P, Filabozzi P and Patrono C. Selective cumulative inhibition of platelet thromboxane production by low-dose aspirin in healthy subjects. *J Clin Invest*. 1982;69:1366-72.

86. Dalen JE. Aspirin to prevent heart attack and stroke: what's the right dose? *The American journal of medicine*. 2006;119:198-202.

87. Zheng Z, Schwab S, Grau A and Berger C. Neuroprotection by early and delayed treatment of acute stroke with high dose aspirin. *Brain Res*. 2007;1186:275-80.

88. Wilterdink JL, Bendixen B, Adams HP, Jr., Woolson RF, Clarke WR and Hansen MD. Effect of prior aspirin use on stroke severity in the trial of Org 10172 in acute stroke treatment (TOAST). *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2001;32:2836-40.
89. Grilli M, Pizzi M, Memo M and Spano P. Neuroprotection by aspirin and sodium salicylate through blockade of NF-kappaB activation. *Science*. 1996;274:1383-5.
90. Nadareishvili Z, Michaud K, Hallenbeck JM and Wolfe F. Cardiovascular, rheumatologic, and pharmacologic predictors of stroke in patients with rheumatoid arthritis: a nested, case-control study. *Arthritis Rheum*. 2008;59:1090-6.
91. Ruzov M, Rimon G, Pikovsky O and Stepensky D. Celecoxib interferes to a limited extent with aspirin-mediated inhibition of platelets aggregation. *Br J Clin Pharmacol*. 2015.
92. Rimon G, Sidhu RS, Lauver DA, Lee JY, Sharma NP, Yuan C, Frieler RA, Trievel RC, Lucchesi BR and Smith WL. Coxibs interfere with the action of aspirin by binding tightly to one monomer of cyclooxygenase-1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107:28-33.
93. 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 and Patrignani P. Celecoxib, ibuprofen, and the antiplatelet effect of aspirin in patients with osteoarthritis and ischemic heart disease. *Clin Pharmacol Ther*. 2006;80:264-74.
94. Wilner KD, Rushing M, Walden C, Adler R, Eskra J, Noveck R and Vargas R. Celecoxib does not affect the antiplatelet activity of aspirin in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol*. 2002;42:1027-30.
95. Greenberg HE, Gottesdiener K, Huntington M, Wong P, Larson P, Wildonger L, Gillen L, Dorval E and Waldman SA. A new cyclooxygenase-2 inhibitor, rofecoxib (VIOXX), did not alter the antiplatelet effects of low-dose aspirin in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol*. 2000;40:1509-15.
96. 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. Antiplatelet Trialists' Collaboration. *BMJ*. 1994;308:81-106.
97. Gengo FM, Rubin L, Robson M, Rainka M, Gengo MF, Mager DE and Bates V. Effects of ibuprofen on the magnitude and duration of aspirin's inhibition of platelet aggregation: clinical consequences in stroke prophylaxis. *J Clin Pharmacol*. 2008;48:117-22.
98. Schuijt MP, Huntjens-Fleuren HW, de Metz M and Vollaard EJ. The interaction of ibuprofen and diclofenac with aspirin in healthy volunteers. *Br J Pharmacol*. 2009;157:931-4.
99. Schmidt M, Fosbol EL, Torp-Pedersen C, Olsen AS, Christensen B and Gislason GH. [Cardiovascular risks of non-steroidal anti-inflammatory drugs treatment]. *Ugeskr Laeger*. 2016;178.
100. Polzin A, Richter S, Schror K, Rassaf T, Merx MW, Kelm M, Hohlfield T and Zeus T. Prevention of dipyron (metamizole) induced inhibition of aspirin antiplatelet effects. *Thrombosis and haemostasis*. 2015;113.
101. Rafaniello C, Ferrajolo C, Sullo MG, Sessa M, Sportiello L, Balzano A, Manguso F, Aiezza ML, Rossi F, Scarpignato C and Capuano A. Risk of gastrointestinal complications associated to NSAIDs, low-dose aspirin and their combinations: Results of a pharmacovigilance reporting system. *Pharmacol Res*. 2015;104:108-114.