Aus dem Institut für Pharmakologie und Klinische Pharmakologie der

Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktor: Prof. Dr. rer. nat. Jens Fischer

Prävention von thromboembolischen Ereignissen in der Kardiologie – Arzneimittelinteraktionen von Thrombozytenfunktionshemmern, Analgetika und oralen Antikoagulantien (OAK)

Dissertation

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

vorgelegt von
Alina Joline Achilles

2019

Gutachter

Erstgutachter: Prof. Dr. med. Thomas Hohlfeld
Zweitgutachter: PD Dr. med. Amin Polzin

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

gez.:

Dekan/in:

Erstgutachter:

Zweitgutachter:

Widmung

Ich widme diese Arbeit meiner Mutter, Martina Achilles, die mich gelehrt hat für meine Träume zu kämpfen, für mein Glück hart zu arbeiten und für meine Fehler einzustehen. Ohne dich wäre nichts von alldem möglich gewesen.

„That that was what one person could do for another, fix him up – sew up the problem, make him alright again. That was the most marvelous thing in the world… I wanted to do that. I always thought it was the one concrete thing in the world that a human being could do. Fix up the sick, you know – and make them whole again.“

„A raisin in the sun“, Lorraine Hansberry

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Achilles A, Mohring A, Zeus T, Kelm M and Polzin A. Dabigatran enhances platelet reactivity and platelet thrombin receptor expression in patients with atrial fibrillation: reply. *Journal of thrombosis and haemostasis: JTH*. 2017.

Achilles A, Mohring A, Dannenberg L, Piayda K, Levkau B, Hohlfeld T, Zeus T, Kelm M and Polzin A. Analgesic medication with dipyrone in patients with coronary artery disease: Relation to MACCE. *International journal of cardiology*. 2017.

Zusammenfassung

Die koronare Herzerkrankung (KHK) ist die häufigste Todesursache in der westlichen Welt. Ihre Behandlung kollidiert in einer alternden Gesellschaft immer häufiger mit den Therapieschemata anderer chronischer Erkrankungen. Diese Arbeit beschäftigt sich in diesem Zusammenhang vor allem mit der Analgesie chronischer Schmerzen, sowie mit der oralen Antikoagulation bei Vorhofflimmern.
In der Vergangenheit konnte gezeigt werden, dass die Sekundärprophylaxe der KHK mittels Acetylsalicylsäure (ASS) häufig auf sogenannte *non-responder* stößt. Diese Patienten zeigen trotz einer Thrombozytenhemmung mittels ASS eine unveränderte Plättchenreaktivität. Hierfür wurden bereits unterschiedliche Ursachen ergründet. Unter anderem konnte bereits gezeigt werden, dass eine Komedikation mit dem Analgetikum Metamizol für eine verminderte ASS-Wirkung am Thrombozyten sorgt. In dieser Arbeit widmeten wir uns der Frage, ob sich diese verminderte ASS-Wirkung auch auf die Endpunkte Schlaganfall, Myokardinfarkt und Tod auswirkt.
Wir erfragten die genannten Endpunkte in zwei Kohorten: Die erste Gruppe umfasste 36 Patienten, welche aufgrund einer KHK mittels ASS behandelt wurden. Die zweite, ebenfalls 36 Patienten umfassende Gruppe erhielt neben ASS auch eine Analgesie mittels Metamizol.
Die Ergebnisse zeigten eine signifikante Erhöhung für den kombinierten Endpunkt in der komedizierten Gruppe. Der Zusammenhang mit einer verminderten Thrombozytenhemmung unter kombinierter Therapie muss in weiteren Studien erörtert werden.
Im zweiten Teil dieser Arbeit beschäftigten wir uns mit dem Einfluss des neuen oralen Antikoagulanz (NOAC) Dabigatran auf die Thrombozytenfunktion. Wir untersuchten an 13 Patienten der Klinik für Kardiologie, Pneumologie und Angiologie der Uniklinik Düsseldorf die Plättchenreaktivität mittels Lichttransmissions-aggregometrie (LTA) und die Thrombinrezeptorexpression mittels Durchflusszytometrie (FACS). Die Messungen wurden vor und 12 Stunden nach initialer Medikamentengabe durchgeführt. Hier zeigte sich, dass sowohl die Reaktivität der Plättchen, als auch die Anzahl der exprimierten

Oberflächenrezeptoren für Thrombin signifikant zunahmen. Ob diese Ergebnisse in Zusammenhang mit der in mehreren großen Multicenter-Studien festgestellten erhöhten Inzidenz für Myokardinfarkte unter Dabigatran steht, ist nicht geklärt. Diese Frage sollte in weiterführenden Studien genauer evaluiert werden.
Zusammenfassend sollte die Therapie der KHK also in Einbeziehung aller Komorbiditäten unter interindividueller Abstimmung erfolgen.

Summary

Coronary artery disease (CAD) is the most common cause of death in the western world. In an aging society, its therapy often needs to be arranged with the therapy of other chronic diseases. Therefore, this work primarily addressed concomitant treatment of CAD and chronic pain as well as CAD and the need for oral anticoagulation due to atrial fibrillation.

Former studies have shown, that there is a large amount of so-called non-responders among CAD-patients treated with acetylsalicylic acid (ASA) as secondary prevention of CAD. These patients show unaltered platelet reactivity despite the inhibition of platelets by ASA. We have previously shown that comedication with metamizole leading to a direct pharmacodynamic drug-drug interaction at the level of COX-1 is associated with impaired aspirin antiplatelet effects. There have been several hypothesises to explain this phenomenon. One explanation for example was that a comedication with the analgesic metamizole inhibits the effect of ASS on the thrombocyte.

In this study we have investigated if the aspirin/metamizole comedication leads to impaired clinical outcome as well. We investigated major cardiac and cerebrovascular events (MACCE) in patients with permanent aspirin/metamizole comedication as compared to aspirin alone treated patients. The end-points were conducted in telephone interviews. The patients were grouped as followed: The first group included 36 patients that were treated with ASA due to CAD, the other group included 36 patients co-medicated with ASA and metamizole. We could show that MACCE was more frequent in co-medicated patients.

In the second part of this work, we took a closer look at the non-vitamin-K oral anticoagulant (NOAC) dabigatran. In 13 patients hospitalized at the department of Cardiology, Pneumology and Angiology of the Heinrich-Heine University Medical Centre Düsseldorf, we analysed platelet reactivity via light transmission aggregometry (LTA) und platelet thrombin receptor expression via flow cytometry (FACS). Measurements were performed before and 12 hours after the initial intake of dabigatran. Here we could show that platelet reactivity as well as platelet thrombin

receptor expression was significantly increased. Whether these findings can be correlated with an increased incidence of myocardial infarction in dabigatran-treated patients in several multi-centre trials needs to be further evaluated.

In summary it can be claimed that CAD-therapy must be designed individualy and additional chronic diseases need to be considered in individualized medicine.

Abkürzungen

KHK	Koronare Herzkrankheit
VHF	Vorhofflimmern
MI	Myokardinfarkt
TF	Tissue factor (Gewebsthromboplastin)
vWF	von-Willebrand-Faktor
GP Ib/V/IX	Glycoprotein Ib/V/IX
GP VI	Glycoprotein VI
ADP	Adenosindiphosphat
TXA_2	Thromboxan A_2
GP IIb/IIIa	Glycoprotein IIb/IIIa
ASS	Acetylsalicylsäure
DAPT	dual antiplatelet therapy, duale Plättchenhemmung
PCI	percutanous coronary intervention, perkutane koronare Intervention
COX-1	Cyclooxygenase-1
TX	Thromboxan
HTPR	high on treatment platelet reactivity
AA	Arachidonsäure
LTA	Lichttransmissionsaggregometrie
TXB_2	Thromboxan B_2
NOAC	Nicht-Vitamin-K-orale-Antikoagulanzien
VKA	Vitamin-K-Antagonisten
INR	International Normalized Ratio
NSAR	Nicht-steroidale Antirheumatika
WHO	Weltgesundheitsorganisation
STEMI	ST-elevation myocardial infarction
NSTEMI	non-ST-elevation myocardial infarction
EKG	Elektrokardiogramm

CT	Computertomographie
MRT	Magnetresonanztomographie
TIA	Transiente ischämische Attacke
TRAP-6	thrombin receptor activating peptide 6
PAR	protease activated receptor
PRP	Plättchen-reiches Plasma
PAP	Plättchen-armes Plasma
MoA	Maximum of Aggregation
FACS	fluorescence-activated cell sorting, Durchflusszytometrie
AK	Antikörper
PFA	Paraformaldehyd
SEM	Standardfehler des Mittelwertes
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
CI	Konfidenzintervall
ACS	acute coronary syndrome, akutes Koronarsyndrom
pAVK	periphere Arterielle Verschlusskrankheit
MAA	Methylaminoantipyrin
NSAID	non-steroidal antiinflammatory drugs
ESC	European Society of Cardiology

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung - 1 -

1.1 Thrombozytenreaktivität in der Kardiologie: Der Thrombozyt als Determinante des Myokardinfarktes (MI) - 2 -

1.2 Medikamentöse Thrombozytenhemmung - 6 -

1.2.1 Substanzen und Indikationen - 6 -

1.2.2 Resistenzen in der antithrombothischen Therapie - 6 -

1.3. Orale Antikoagulation: Indikation und Substanzen - 9 -

1.4 Schmerztherapie: Überblick - 10 -

1.5 Fragestellung - 11 -

2 Material und Methoden - 12 -

2.1 Studiendesign, Patientenkollektiv und Follow-up - 12 -

2.2 Material - 15 -

2.2.1 Blutentnahme - 15 -

2.2.2 Gewinnung von Plasma - 15 -

2.2.3 Substanzen und Lösungen - 16 -

2.3 Methoden - 17 -

2.3.1 Thrombozytenfunktionsmessung und Aggregometrie - 17 -

2.3.2 Einsatz von Stimulanzien in der Aggregation - 17 -

2.3.3 Auswertung und Interpretation der Aggregationskurven - 18 -

2.3.4 Messung der Rezeptorexpression - 19 -

2.3.5 Auswertung und Interpretation der Rezeptorexpression - 20 -

2.3.6 Statistische Auswertung - 21 -

3 Ergebnisse - 22 -

3.1 Studienpopulationen - 22 -

3.2 Aspirin vs. Aspirin + Metamizol: Ein Vergleich von Endpunkten - 28 -

3.3 Plättchenreaktivität und Thrombinrezeptorexpression unter Dabigatrantherapie - 32 -

4 Diskussion - 37 -

4.1 Bedeutung einer verminderten ASS Wirkung - 37 -

4.2 Limitationen des Follow-up - 40 -
4.3 Der Zusammenhang einer Dabigatranmedikation mit einer erhöhten Plättchenreaktivität - 42 -
4.4 Limitationen der Dabigatranstudie - 43 -
4.5 Aussicht: Die Wahl des „richtigen“ Antikoagulanz - 43 -
5 Literatur - 49 -
6 Danksagung - 57 -

1 Einleitung

Die koronare Herzkrankheit (KHK) stellt die führende Todesursache in der westlichen Welt dar. Damit liegt in ihrer Prävention, Früherkennung und Therapie ein Großteil der täglichen Herausforderungen in der Kardiologie. Es handelt sich um eine chronisch fortschreitende Erkrankung der Herzkranzarterien (Koronarien), deren gefürchtetste Komplikation der plötzliche Herztod durch Myokardinfarkt (MI) darstellt.

Zur Prävention dieses lebensbedrohlichen Akutereignisses bestehen unterschiedliche Therapieansätze. Die medikamentöse Behandlung muss in jedem Fall individuell auf den Patienten abgestimmt werden. Dabei müssen sowohl die Ursache für ein kardio- bzw. zerebrovaskuläres Ereignis als auch die Begleiterkrankungen des zu Behandelnden berücksichtigt werden. Die KHK ist vor allem eine Erkrankung des höheren Lebensalters, in welchem auch häufig chronische Schmerzen die Lebensqualität schmälern. Auch die Prävalenz von Vorhofflimmern (VHF) zeigt eine eindeutige Assoziation mit dem Älterwerden. Ein individuelles Therapiekonzept kardiologischer Patienten umfasst also neben der Thrombozytenhemmung und einer effektiven Antikoagulation häufig ebenfalls eine potente Analgesie. Eine feine Abstimmung der unterschiedlichen Wirkstoffe aufeinander ist jedoch wie im Folgenden gezeigt in jedem Falle erforderlich, da eine unter falschen Voraussetzungen angewandte Therapie das Risiko thromboembolischer Ereignisse verstärken kann, anstatt sie zu verhindern.

Diese Arbeit stellt im Folgenden zwei Studien vor, die innerhalb eines Zeitraums von etwa drei Jahren an der Klinik für Kardiologie, Pneumologie und Angiologie des Universitätsklinikums Düsseldorf durchgeführt wurden. Ihre Ergebnisse greifen gleich mehrere Aspekte einer Problematik auf, die sich aus der medikamentösen Therapie von häufig multimorbide erkrankten, kardiologischen Patienten ergibt.

1.1 Thrombozytenreaktivität in der Kardiologie: Der Thrombozyt als Determinante des Myokardinfarktes (MI)

Die Aktivierung des Thrombozyten und seine Transformation zum zentralen Bestandteil eines gefäßverschließenden Thrombus bilden die Grundlage für das lebensbedrohliche Akutereignis der KHK – den Herzinfarkt. So kann die Adhäsion des Thrombozyten an der koronaren Gefäßwand in Anwesenheit eines Plaques beispielsweise zu einem thrombotischen Verschluss des Gefäßes und somit zu einer myokardialen Ischämie und schließlich zum Infarkt führen. Des Weiteren kann die Mikroembolisation von Plättchen und ihre Akkumulation in der Mikrozirkulation des Myokards erhebliche Gewebeschäden hervorrufen.[1] Um dieser Pathologie und ihrer Therapie auf den Grund zu gehen, soll im Folgenden zunächst die Physiologie der Thrombozytenaktivierung erläutert werden.

Die Unterteilung in primäre und sekundäre Hämostase, die Unterscheidung zwischen zellulären und humoralen Bestandteilen der Gerinnung, sowie das Zusammenspiel des extrinsischen und intrinsischen Systems der Blutstillung sind uns seit langem bekannt. Als Pionier der Forschung auf diesem Gebiet beschrieb bereits Rudolf Virchow 1865 in seinem Werk „Gesammelte Abhandlungen zur wissenschaftlichen Medicin“, dass der Gerinnungsprozess sich aus drei wesentlichen Elementen zusammensetzt nämlich einer Gefäßläsion, einer verminderten Flussgeschwindigkeit und einer erhöhten Viskosität des Blutes. Diese Voraussetzungen für eine regelhaft verlaufende Blutstillung wurden später auch als die Virchow’sche Trias bezeichnet.[2]

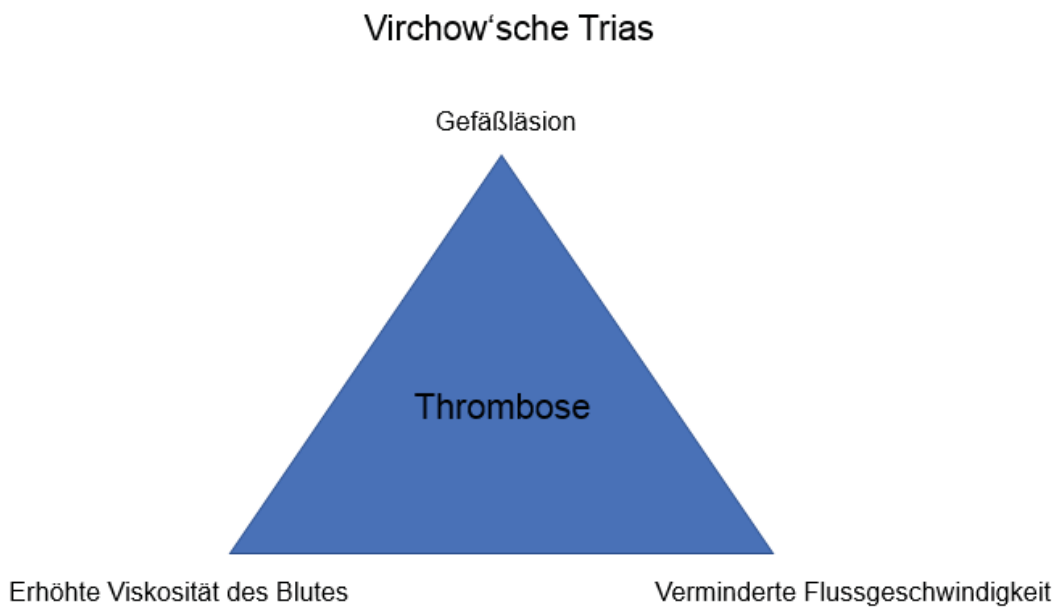


Abb.1: Virchow'sche Trias.

Diese drei Faktoren bedingen das Anheften der Thrombozyten an die durch Läsion des Gefäßes freigelegte extrazelluläre Matrix, vor allem an freiliegenden Kollagenfasern und an Gewebsthromboplastin, auch tissue factor (TF) genannt. Diese binden über den von-Willebrand-Faktor (vWF) an die thrombozytären Rezeptoren Glykoprotein Ib/V/IX (GP Ib/V/IX) und Glykoprotein VI (GPVI), wodurch es zur Aktivierung des Thrombozyten kommt.[3] Durch die Freisetzung autokriner Mediatoren aus den Plättchen, wie z.B. Thrombin, Adenosindiphosphat (ADP), Thromboxan A_2 (TXA_2) und Epinephrin kommt es zu einer Amplifizierung der Plättchenaktivierung und -rekrutierung. Außerdem aktiviert dieser Vorgang den thrombozytären Rezeptor Glykoprotein IIb/IIIa (GPIIb/IIIa), über den eine Quervernetzung der Thrombozyten mittels Fibrin erst möglich wird. Die Spaltung des in der Leber gebildeten und im Plasma vorliegenden Fibrinogens zu Fibrin erfolgt durch die Serinprotease Thrombin, welches in geringen Mengen bereits im Plasma vorliegt und durch die Aktivierung der Thrombozyten zusätzlich aus eben diesen freigesetzt wird. Es kommt zur Bildung eines instabilen Thrombus, der

vorübergehend ausreicht, um die Gefäßläsion zu verschließen. Die primäre Hämostase ist nun abgeschlossen [4].

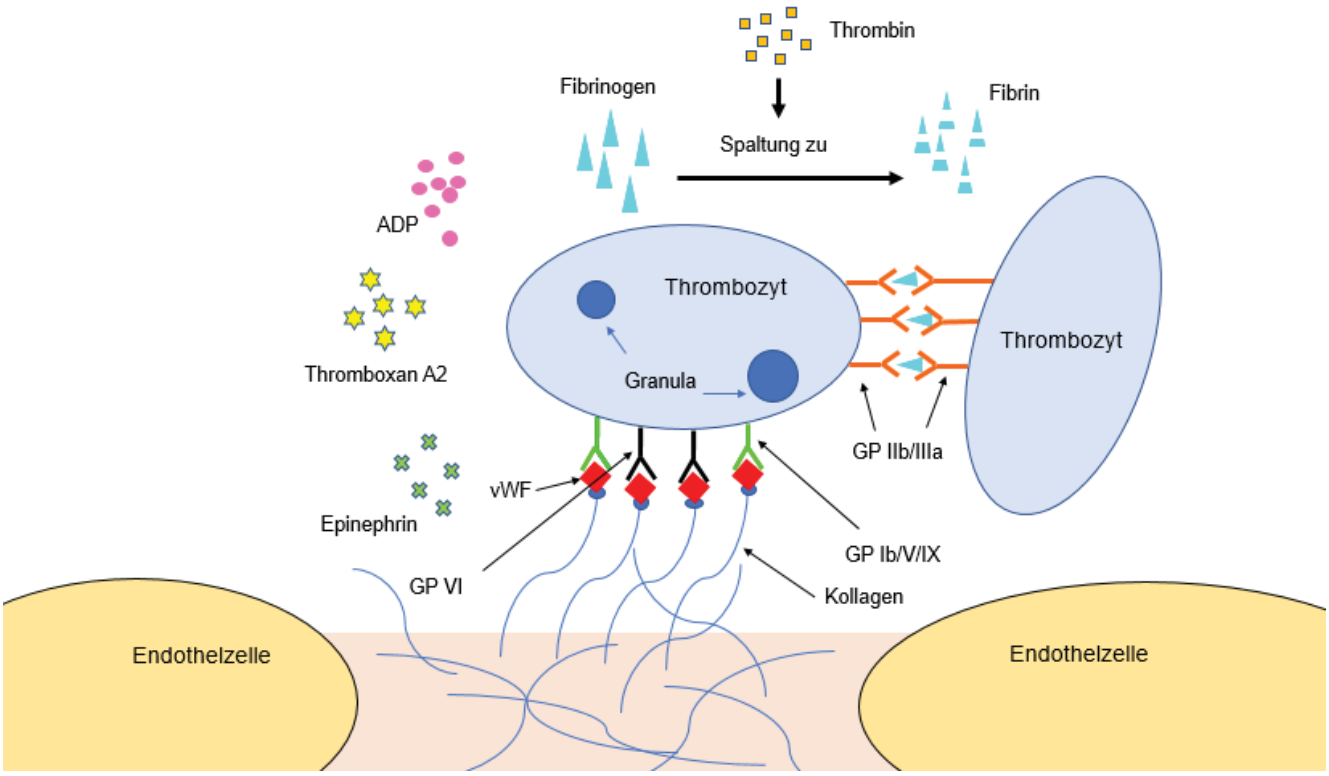


Abb. 2: Die primäre Hämostase (modifiziert nach Harrison et al.[5])

Die sekundäre Hämostase dient der Stabilisierung des Thrombus und erfolgt auf der Grundlage verschiedener in der Leber gebildeter und im Plasma vorliegender humoraler Gerinnungsfaktoren. Ihre Aktivierung innerhalb eines intakten Gefäßsystems wird durch unterschiedliche antikoagulatorische Mechanismen verhindert, wie z.B. das Thrombomodulin, welches das Thrombin als sein Kofaktor von einem Prokoagulanz in ein Antikoagulanz umwandelt, indem es die antikoagulatorische Serinprotease Protein C aktiviert.

Kommt es jedoch zu einer Verletzung des Gefäßes und einer Exposition des Blutes gegenüber extrazellulären Geweben, welche reich an TF sind, entfaltet dieser seine Wirkung als Kofaktor der Serinprotease Faktor VIIa. Diese beiden Faktoren sind in Anwesenheit von Calcium, welches aus den elektronendichten Granula der

aktivierten Thrombozyten freigesetzt wird, und negativ geladenen Phospholipiden aus der Thrombozytenmembran in der Lage Faktor IX zu Faktor IXa und Faktor X zu Faktor Xa zu aktivieren. Dieser Vorgang wird als exogene Aktivierung der sekundären Hämostase bezeichnet.[6]

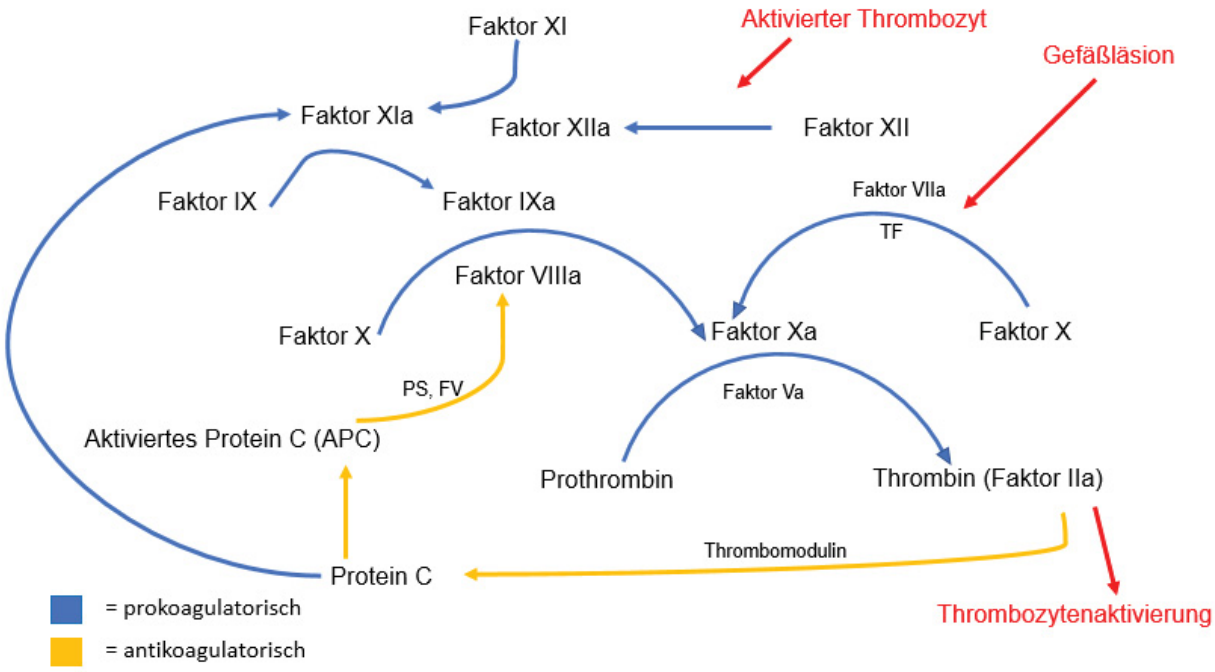


Abb. 3: Die sekundäre Hämostase (modifiziert nach Gale et al.[6])

Die endogene Aktivierung des humoralen Gerinnungssystems erfolgt parallel zur exogenen und vereint sich mit ihr in der gemeinsamen Endstrecke - der Aktivierung von Faktor X. Den Ausgangspunkt der endogenen Gerinnungsaktivierung stellt der Faktor XII dar, welcher durch den Kontakt mit negativ geladenen Oberflächen zu Faktor XIIa umgewandelt wird. Diese werden im Rahmen der Thrombozytenaktivierung an der Oberfläche exponiert. Faktor XIIa aktiviert wiederum den Faktor XI zu Faktor XIa. Faktor XIa aktiviert nun in Anwesenheit von Ca^{2+} Faktor IX zu Faktor IXa, welcher gemeinsam mit dem Komplex aus TF und Faktor VIIa den beide Systeme verbindenden Faktor X zu Faktor Xa aktiviert. Dieser Faktor ist nun also in der Lage in Anwesenheit seines Kofaktors Faktor Va das

Proenzym Prothrombin zum aktiven Thrombin (Faktor IIa) zu spalten, welches dann durch die Spaltung von Fibrinogen zu Fibrin die endgültige Quervernetzung des Thrombus ermöglicht. Darüber hinaus ist Thrombin in der Lage seine eigene Generation über die Aktivierung des Faktors VIII zu amplifizieren [7].

1.2 Medikamentöse Thrombozytenhemmung

1.2.1 Substanzen und Indikationen

Betrachten wir den Thrombozyten isoliert vom restlichen Teil des Gerinnungsprozesses, so bestehen medikamentös unterschiedliche Möglichkeiten, seine Reaktivität zu senken. Die seit mehr als 100 Jahren bekannte Acetylsalicylsäure (ASS, Aspirin®) ist wohl die am Häufigsten eingesetzte Substanz in der sekundären Prävention der KHK. In Kombination mit einem Präparat der Gruppe der P2Y12-Hemmer (z.B. Clopidogrel, Ticagrelor, Prasugrel, Cangrelor), welche den thrombozytären ADP-Rezeptor hemmen, stellt sie als duale Plättchenhemmung (DAPT) den Goldstandard der Therapie nach perkutaner, koronarer Intervention (percutanous coronary intervention, PCI) dar.[8] In der für diese Indikation eingesetzten Dosis von 75-325 mg pro Tag bindet die ASS an das aktive Zentrum der thrombozytären Cyclooxygenase 1 (COX-1) durch Acetylierung des Serins 530 nahe des aktiven Zentrums des Enzyms. Dort bewirkt es eine irreversible Hemmung.[9] Für die gesamte Lebensdauer eines Thrombozyten wird so die Bildung des aggregationsiduzierenden Thromboxans (TX) blockiert. Die medikamentöse Thrombozytenaggregationshemmung bewirkt also eine direkte Inhibition der primären Hämostase. Als DAPT kommen diese Medikamente nach PCI zwischen 3 und 12 Monaten zum Einsatz, die ASS-Monotherapie begleitet die Patienten danach meist ein Leben lang.[8]

1.2.2 Resistenzen in der antithrombotischen Therapie

Allerdings ist eine verminderte Plättchenhemmung unter Aspirintherapie keine Seltenheit, sondern eine in der Literatur häufig beschriebene Komplikation.[10-12] Die sogenannte *high on treatment platelet reactivity* (HTPR) beschreibt eine

fortbestehende Plättchenreaktivität trotz Einsatz von ASS. Diese ist mit einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse assoziiert.[13] Außerdem konnte gezeigt werden, dass Schlaganfallpatienten mit einer HTPR unter ASS-Therapie eine verzögerte neurologische Genesung aufweisen.[14] Die Gründe für das Vorliegen einer HTPR sind vielfältig und zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht vollständig erfasst. In Vorarbeiten konnten bereits das Vorliegen genetischer Polymorphismen, ein erhöhter Plättchenumsatz, Begleiterkrankungen wie Diabetes mellitus oder chronisches Nierenversagen, sowie Arzneimittelinteraktionen identifiziert werden.[15, 16] Unserer Arbeitsgruppe gelang es schon im Jahr 2013 zu zeigen, dass eine Komedikation mit Metamizol (Dipyron, Novalgin®) die plättchenhemmende Wirkung von ASS *ex vivo* abschwächt. Untersucht wurden zu diesem Zweck drei Gruppen bestehend aus KHK-Patienten, die aktuell leitliniengerecht mit ASS therapiert wurden. In Gruppe A wurden 10 Patienten zusammengefasst, bei denen die medikamentöse Therapie aufgrund einer bevorstehenden Herzoperation aktuell pausiert worden war. Gruppe B schloss 20 Patienten mit einer ASS-Monotherapie ein und die 36 Patienten aus Gruppe C wurden aufgrund von zusätzlich vorliegenden, chronischen Schmerzen mit Metamizol komediziert. 75% der Patienten aus Gruppe B und C erhielten im Rahmen einer dualen Plättchenhemmung zusätzlich Clopidogrel. Eine additive Antikoagulanzientherapie lag bei keinem der Patienten vor. Gemessen wurde bei allen Patienten im Sinne einer Querschnittsstudie die Arachidonsäure (AA) -induzierte Thrombozytenreaktivität mittels Lichttransmissionsaggregometrie (LTA), sowie die Bildung von Thromboxan B_2 (TXB_2). Vermittelt über die COX-1, ist die AA-induzierte Aggregation ein spezifischer Maßstab für die ASS-vermittelte Wirkung am Thrombozyten. Abb. 4 zeigt, dass die Stimulierung mit AA eine eindeutige Bildung von TXB_2 und somit eine suffiziente Aggregation hervorruft (schwarzer Balken und Kurve). Unter adäquater ASS-Therapie (Gruppe B) hingegen, sind sowohl die TXB_2-Formation als auch die Plättchenaggregation vollständig gehemmt (rote Kurve). Betrachtet man nun Gruppe C, also die Patienten, die mit beiden Medikamenten komediziert wurden, so sieht man, dass eine ausreichende TXB_2-Generierung stattfindet, um eine adäquate Aggregation der Thrombozyten auszulösen (blauer Balken und Kurve).[17] Die wahrscheinlichste Erklärung für dieses Phänomen ist wohl

die von Hohlfeld et al. beschriebene reversible Bindung von Metamizol an Serin 530 des aktiven Zentrums der thrombozytären COX-1. Diese verhindere so die Acetylierung des Serins durch die ASS.[18] Mit der Frage, ob sich dies auch auf das Vorkommen kardiovaskulärer Endpunkte wie Myokardinfarkt, Schlaganfall und Tod auswirkt, befasst sich eine der in dieser Arbeit beschriebenen Studien.

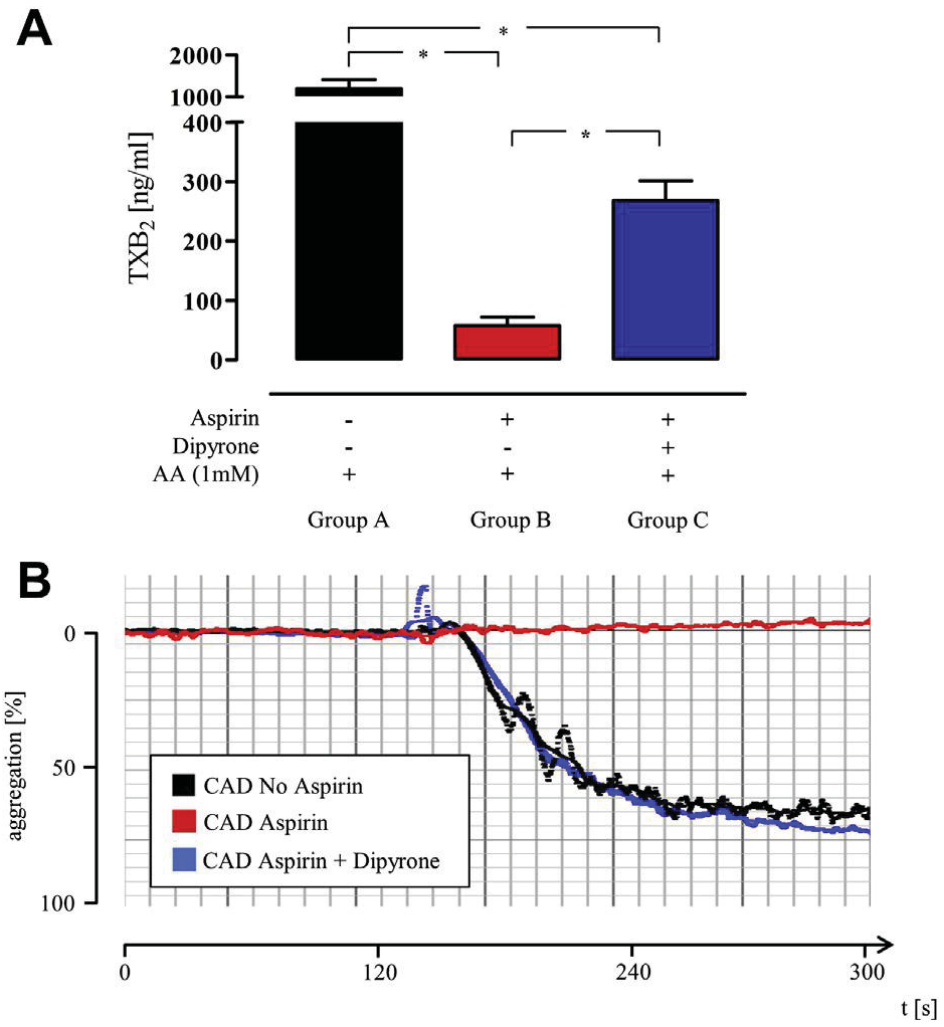


Abb.4: Thromboxanbildung (Graph A) und Plättchenreaktivität (Graph B) nach Stimulation mittels AA in Patienten ohne Aspirin (Gruppe A), mit Aspirin-Monotherapie (Gruppe B) und mit Aspirin-Metamizol-Komedikation (Gruppe C). (Anm.: Dipyrone = Metamizol, s. Einleitung).

1.3 Orale Antikoagulation: Indikation und Substanzen

Die DAPT nach PCI muss in bestimmten Fällen leitliniengerecht auf eine sogenannte Triple-Therapie erweitert werden. Liegt nebenbefundlich zusätzlich ein Vorhofflimmern vor, so wird die Therapie um ein orales Antikoagulanz ergänzt.[8] Dieses soll die Bildung intrakavitärer Thromben verhindern, welche durch Ablösung die Hauptursache ischämischer Schlaganfälle darstellen.

Neben der seit Jahrzehnten erfolgreich eingesetzten Hemmung von Vitamin K, von dessen Anwesenheit die Synthese des Thrombins in der Leber, sowie der Faktoren VII, IX und X abhängig ist, durch Phenprocoumon (Marcumar®), spielen seit einigen Jahren die sogenannten neuen oralen Antikoagulanzien (NOAC) eine immer entscheidendere Rolle in der Prävention von ischämischen Schlaganfällen. Ihre Wirkung beruht auf der zielgerichteten Hemmung nur eines spezifischen Gerinnungsfaktors. Inhibitoren der Faktoren IIa (z.B. Dabigatran, Argatroban) und Xa (z.B. Rivaroxaban, Apixaban) gewährleisten einen kalkulierbareren und weniger labilen antikoagulatorischen Effekt. Sie neigen seltener zu Interaktionen mit Lebensmitteln oder anderen Medikamenten und erfordern deshalb kein regelmäßiges Monitoring.[19] So haben die NOAC in den letzten Jahren immer mehr Einzug in den klinischen Alltag gehalten. Viele große Multicenter-Studien haben sich in der Vergangenheit bereits mit dem Nutzen der Substanzen in verschiedenen Bereichen beschäftigt. Ausschlaggebend für den zweiten Teil dieser Arbeit war allerdings vor allem die im Jahr 2009 veröffentlichte RE-LY Studie. Sie diente dem Vergleich von Vitamin-K-Antagonisten (VKA) gegenüber dem NOAC Dabigatran, einem direkten Faktor II-, also Thrombininhibitoren. Eingeschlossen wurden ausschließlich Patienten mit einer Indikation zur oralen Antikoagulation aufgrund von Vorhofflimmern. Die Unterteilung der Patienten in dieser Studie erfolgte in drei Gruppen: In der ersten erhielten die Patienten eine Dosis von 110 mg Dabigatran zweimal täglich, in der zweiten Gruppe erfolgte die Gabe von 150 mg Dabigatran zweimal täglich und eine dritte Gruppe wurde entsprechend der International Normalized Ratio (INR) mittels Warfarin, ein in den USA häufig eingesetzter VKA, antikoaguliert. Die Ergebnisse zeigten, dass Dabigatran in beiden Dosen dem VKA in Bezug auf die Prävention von ischämischen Schlaganfällen, sowie systemischen

Embolien nicht unterlegen war. Außerdem zeigten sich für die 110 mg weniger Blutungsereignisse als in der VKA-behandelten Gruppe. In der höherdosierten Anwendung kam es sogar zu signifikant weniger ischämischen Schlaganfällen und systemischen Embolien als unter VKA-Therapie. Die Blutungsraten jedoch waren hier ähnlich. Entscheidend für die Ausrichtung unserer Studie war jedoch ein anderes Ergebnis: Die Rate an Myokardinfarkten war in beiden Dabigatran-behandelten Gruppen signifikant erhöht verglichen mit den Patienten, die mit Warfarin behandelt wurden.[20] Der Mechanismus für dieses Phänomen blieb bisher jedoch ungeklärt. Ob eine erhöhte Plättchenreaktivität durch eine gesteigerte Thrombinrezeptorexpression auf den Thrombozyten dafür verantwortlich ist, ist eine der zentralen Fragen dieser Arbeit.

1.4 Schmerztherapie: Überblick

Wie bereits zuvor erwähnt, ist es aufgrund der immer älter werdenden Patienten in der Kardiologie keine Seltenheit, dass bei KHK-Patienten zusätzlich auch chronische Schmerzen bestehen. Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) gibt ein festes Schema zur Schmerztherapie vor. Die ursprüngliche Intention war es, ein einheitliches Schema zur Behandlung von Tumorschmerzen zu erstellen. Mittlerweile ist dessen klinische Bedeutung aber auch darüber hinaus in der Therapie andersartiger Schmerzen gewachsen. Es beinhaltet drei Therapiestufen, wobei die jeweils nächsthöhere indiziert ist, sobald die vorangegangene nicht mehr ausreicht, um die Schmerzen zu kontrollieren.

Die erste Stufe umfasst zum einen die sogenannten nicht-steroidalen Antirheumatika (NSAR), sowie ASS (in höherer Dosis als zur Behandlung von KHK) und zum anderen auch Metamizol, ein Pyrazolderivat. Der Wirkmechanismus des im Volksmund besser als Novalgin bekannten Medikamentes ist noch nicht vollständig geklärt. Zum einen konnte gezeigt werden, dass Metamizol TRPA1-Rezeptoren in Schmerzfasern blockiert.[21] Zum anderen ist seit den 1980er Jahren bekannt, dass der Wirkstoff außerdem ebenfalls die COX hemmt.[22] Eine sehr seltene, jedoch die wohl gefürchtetste Nebenwirkung des Medikaments ist eine lebensbedrohliche Blutbildungsstörung, die sogenannte Agranulozytose. Diese

kann dazu führen, dass die Betroffenen an lebensbedrohlichen Infektionen erkranken. Aus diesem Grund ist die Gabe von Metamizol zur Schmerzlinderung in manchen Ländern dieser Welt, darunter die USA, verboten.[23] Da die NSAR zur Behandlung von Schmerzen bei KHK-Patienten jedoch nicht empfohlen sind, ist es in Europa nach wie vor ein gerne und häufig eingesetztes Analgetikum.[24, 25]
Sollte die analgetische Wirkung der ersten Stufe nicht ausreichend sein, so können deren nicht-steroidalen Medikamente mit niedrigpotenten Opioidanalgetika wie Naloxon, Tilidin oder Codein kombiniert werden. Die dritte Stufe sieht die Kombination aus Analgetika der Stufe 1 und starkwirksamen Opioiden wie Morphin, Fentanyl oder Hydromorphon vor.[26]

1.5 Fragestellung

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

- Welchen Einfluss nimmt eine Komedikation von ASS und Metamizol auf die Endpunkte Myokardinfarkt, Schlaganfall und Tod im Vergleich zu einer ASS-Monotherapie?
- Erhöht die orale Antikoagulation mittels Dabigatran die Plättchenreaktivität und ist dafür eine Mehrexpression der Thrombinrezeptoren auf den Thrombozyten verantwortlich?

Grundlage dieser Arbeit sind zwei voneinander unabhängige Studien, welche im Folgenden auch jeweils getrennt voneinander dargestellt und diskutiert werden sollen.
In der zuerst beschriebenen Studie geht es um die zentrale Frage, ob die von Polzin et al. *ex vivo* beschriebene Blockierung der plättchenhemmenden Wirkung der ASS auch einen Einfluss auf die klinischen Endpunkte Myokardinfarkt, Schlaganfall und Tod nimmt. Aus diesem Grund erfragten wir die genannten Endpunkte auf Grundlage eines Datensatzes, welcher insgesamt 72 KHK-Patienten umfasst, die im Zeitraum von Februar 2011 bis Juni 2012 in unserer Klinik für Kardiologie,

Pneumologie und Angiologie des Universitätsklinikums Düsseldorf rekrutiert wurden. 36 von ihnen wurden mit 100 mg Aspirin täglich therapiert, die anderen 36 nahmen zusätzlich täglich Metamizol aufgrund chronischer Schmerzen zu sich. Dieses Kollektiv diente uns als Patientenpopulation für die im Folgenden an erster Stelle beschriebene Datenerhebung. [27]

Im Rahmen der hier an zweiter Stelle beschriebenen Studie stellten wir uns die Frage, ob es durch die direkte Thrombinhemmung durch das Antikoagulanz Dabigatran zu einer Mehrexpression von Thrombinrezeptoren auf Thrombozyten und so zu einer erhöhten Plättchenreaktivität kommt. Eine gesteigerte Aggregation von Plättchen könnte die Ursache für den erhöhten Anteil an Myokardinfarkten in den Dabigatran-behandelten Gruppen der RE-LY Studie darstellen.

2 Material und Methoden

2.1 Studiendesign, Patientenkollektiv und Follow-up

Zur Beleuchtung verschiedenster Arzneimittelinteraktionen in der Kardiologie wurden im Rahmen dieser Doktorarbeit zunächst zwei voneinander unabhängige Studien durchgeführt, dessen Aufbau und Durchführung im Folgenden einzeln dargestellt werden sollen.

Bei der ersten Studie handelt es sich um die Auswertung von Endpunkten einer im Zeitraum von Februar 2011 bis Februar 2015 prospektiven, beobachtenden, monozentrischen Erhebung von Daten. Die Rekrutierung der eingeschlossenen Patienten erfolgte während eines entsprechenden stationären Aufenthaltes in der Abteilung für Kardiologie, Pneumologie und Angiologie der Universitätsklinik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf. Während des Follow-ups befanden sich die Patienten in ambulanter Betreuung. Als Einschlusskriterien galten eine angiographisch nachgewiesene KHK, die schriftliche Einwilligung des Patienten nach Aufklärung und ein Mindestalter von 18 Jahren. Als Ausschlusskriterium galten jegliche Formen von hämorrhagischen Diathesen. Untersucht wurden zwei unterschiedliche Patientengruppen. Die Aspirin-Gruppe bestand aus 36 KHK-

Patienten mit permanenter *low-dose* (100 mg/d) Aspirin-Medikation. Die Aspirin-Metamizol-Gruppe erhielt zusätzlich zu der täglichen Einnahme einer *low-dose* Aspirin-Medikation eine Therapie ihrer chronischen Schmerzen mittels Metamizol, dessen Dosis und Einnahmeintervalle jedoch nicht kontrolliert waren. Die Dosen variierten zwischen 0,5 g und 3 g, die Einnahmeintervalle zwischen einmal alle 24 Stunden und einmal alle 6h. Beide Patientengruppen wurden entsprechend der klinischen Routine behandelt, das heißt die Studie beeinflusste die medikamentöse Therapie nicht. Die beiden Patientengruppen wurden untereinander nicht gematched. Sowohl die Patientencharakteristika als auch die Daten zum klinischen Bild der Patienten, den kardiovaskulären Risikofaktoren und der Komedikation wurden noch während der stationären Aufenthalte erhoben. Das Follow-up erfolgte in Form von Telefonaten mit den behandelnden Ärzten der Patienten, wobei Daten bezüglich der untersuchten Endpunkte von allen eingeschlossenen Patienten erhoben werden konnten.

Die im Follow-up als primärer Endpunkt erfassten Ereignisse waren eine Kombination aus Tod, Myokardinfarkt (MI) oder Schlaganfall. Als sekundärer Endpunkt galten die einzelnen Komponenten des primären Endpunktes, wobei Tod als Tod jeglicher Ursache definiert, jedoch in Tod kardiovaskulärer Ursache und Tod nicht-kardiovaskulärer Ursache unterschieden wurde. In Anlehnung an die standardisierte Definition klinischer Endpunkte des Academic Research Consortium wurde bei unbeobachteten, plötzlichen Todesereignissen von einer kardiovaskulären Ursache ausgegangen, solange das Gegenteil nicht explizit bewiesen werden konnte. Der Tod nicht-kardiovaskulärer Ursache wurde weiterhin unterteilt in Tod durch Infektion und Tod durch Neoplasie. MI wurde definiert als stationärer Aufenthalt aufgrund der typischen klinischen Symptome, einer Erhöhung der kardialen Biomarker und eines in der Koronarangiographie neu aufgetretenen Verschlusses und wurde weiterhin unterteilt in ST-Hebungsinfarkt (STEMI) und non-ST-Hebungsinfarkt (NSTEMI). Von einem STEMI wurde dann ausgegangen, wenn sich im Elektrokardiogramm (EKG) der Patienten eine neu aufgetretene ST-Streckenhebung ausgehend vom J-Punkt (Übergang der S-Zacke in die ST-Strecke) in mindestens zwei benachbarten Ableitungen von ≥0,2 mV in den Ableitungen V1-V6 bzw. ≥0,1 mV in allen anderen Ableitungen darstellte. MI ohne diese

elektrokardiographischen Nachweise einer ST-Streckenhebung wurden als NSTEMI gewertet.
Als Schlaganfall wurden die klinische Präsentation mit neuen fokal-neurologischen Ausfällen definiert und es erfolgte eine Unterteilung in Schlaganfall mit langanhaltenden Symptomen (>24h) und dem diagnostischen Nachweis mittels Computertomographie (CT) oder Magnetresonanztomographie (MRT) und einer vollständigen Remission der Symptome innerhalb <24h, der sogenannten transienten ischämischen Attacke (TIA).

Bei der zweiten Studie handelt es sich um die klinische Erhebung von Daten in Form einer *time-series* Analyse, die in der Zeit von September bis Dezember 2015 insgesamt 13 Patienten mit einer Indikation zur oralen Antikoagulation aufgrund von Vorhofflimmern einschloss. Diese befanden sich zum Zeitpunkt der Datenerhebung ebenfalls in stationärer Behandlung in der Abteilung für Kardiologie der Universitätsklinik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf. Nach erfolgter Aufklärung und Einwilligung der teilnehmenden Patienten erfolgte eine Blutentnahme vor der initialen Einnahme des NOAC Dabigatran und 12 Stunden danach. Als Einschlusskriterien galten die geplante Initiation einer Dabigatrantherapie, sowie das uneingeschränkte Einverständnis der Patienten an der Studie teilzunehmen. Das Vorliegen einer hämorrhagischen Diathese wurde als einziges Ausschlusskriterium gewertet. Zu beiden Zeitpunkten wurde anhand des gewonnenen Probenmaterials eine mittels AA, ADP, *thrombin receptor activating peptide* (TRAP-6) und Kollagen stimulierte LTA, sowie eine Messung der Expression der Thrombinrezeptoren, der sogenannten *protease activated receptors* (PAR-1 und PAR-4) auf den Thrombozyten mittels Durchflusszytometrie (FACS) durchgeführt.
Ebenso wie bei der zuerst beschriebenen Studie wurden sowohl die Patientencharakteristika als auch die Daten zum klinischen Bild der Patienten, den kardiovaskulären Risikofaktoren und der Komedikation noch während der stationären Aufenthalte erhoben.

In Übereinstimmung mit der Deklaration von Helsinki wurden beide Studien unter Vorlage einer positiven Bewertung durch die Ethikkommission der Heinrich-Heine-

Universität Düsseldorf durchgeführt (Studiennummer: 5068 und 4735). Ebenfalls konnten für alle eingeschlossenen Patienten beider Studien vorab informierte Einwilligungserklärungen eingeholt werden.

2.2. Material

2.2.1. Blutentnahme

Die Blutentnahmen wurden auf den Stationen der Kardiologischen Klinik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf durchgeführt. So erfolgten diese nach Aufklärung und schriftlich erteilter Einverständniserklärung der Patienten durch Punktion einer peripheren Vene, aus welcher pro Entnahmezeitpunkt etwa 5-10 ml abgenommen wurden. Aufgenommen wurde das Vollblut in Vacutainer® (BD Vacutainer® Systems, Plymouth, UK), in welchen sich zur Antikoagulation der Probe Natrium-Zitrat 129 mM im Verhältnis 1:10 befand. Die Proben wurden unmittelbar nach Entnahme zum Labor des Instituts für Pharmakologie transportiert, wo sie zur Vorbereitung auf die entsprechenden Messungen weiterverarbeitet wurden.

2.2.2 Gewinnung von Plasma

Zur Gewinnung von sogenanntem plättchenreichen Plasma (PRP) wurde das noch in Vacutainern® befindliche Zitratblut für 10 Minuten mit 1000 U/min bei Raumtemperatur zentrifugiert (Minifuge GL, Heraeus Christ, Osterode, Deutschland). Das so gewonnene PRP konnte infolge abgehoben und in ein Polystyrolröhrchen (Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Deutschland) überführt werden. Hierzu wurde eine 1000er Pipette verwendet (Eppendorf, Hamburg, Deutschland). Eine weitere Zentrifugation des verbleibenden Vollbluts für 5 Minuten bei 15000 U/min (Biofuge 15, Heraeus Christ, Osterode, Deutschland) lieferte das ebenfalls für die Aggregation erforderliche plättchenarme Plasma (PAP).

2.2.3 Substanzen und Lösungen

Substanzen und Bezugsquellen:

Arachidonsäure	NatuTec, Frankfurt, Deutschland
Adenosin-5‘-Diphosphat	Sigma, Steinheim, Deutschland
Kollagen HORM®	Nycomed, Linz, Österreich
TRAP-6	Sigma, Steinheim, Deutschland
Paraformaldehyd	Sigma, Steinheim, Deutschland
Isoton II BD FACSFlow	Beckman Coulter, Krefeld, Deutschland
CD41-APC AK	Beckman Coulter, Villepinte, Frankreich
IgG1(Mouse)-APC Isotyp	Beckman Coulter, Villepinte, Frankreich
Anti-Thrombin-Receptor PE AK	Beckman Coulter, Villepinte, Frankreich
IgG(Mouse)-PE Isotyp	Beckman Coulter, Villepinte, Frankreich
Thrombin R (ATAP2) FITC AK	Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Deutschland
normal mouse IgG FITC Isotyp	Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Deutschland
PAR-4 AK	Almone Labs, Jerusalem, Israel
PAR-4 Isotyp	Almone Labs, Jerusalem, Israel

Lösungen:

Arachidonsäure: Stammlösung: 100 mM in Ethanol; Gebrauchslösung: 100 µl Stammlösung + 300 µl alkoholische NaOH, getrocknet unter N_2. Am Versuchstag wurde die Gebrauchslösung in 200 µl Tris-Puffer aufgenommen.

TM-Puffer (pH 7,4): 134 mM NaCl, 12 mM $NaHCO_3$, 2,9 mM KCl, 0,36 mM NaH_2PO_4 x H_2O, 1 mM $MgCl_2$ x $6H_2O$, 5 mM HEPES

Tris-Puffer (pH 7,4): 50 mM Tris-HCl, Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland

2.3 Methoden

2.3.1 Thrombozytenfunktionsmessung und Aggregrometrie

Zur Beurteilung der Thrombozytenfunktion führten wir anhand der vorliegenden Patientenproben das turbidimetrische Verfahren der Lichttransmissionsaggregometrie (LTA) durch, welche nach ihrem Erstbeschreiber auch als Born-Aggregometrie bezeichnet wird. Hierzu verwendeten wir das Aggregometer APACT 4004 (Labitec, Ahrensburg, Deutschland). Dieses ist in der Lage, durch Transmission langwelligen Lichts die optische Dichteänderung in einer Plättchensuspension (in diesem Fall PRP) zu detektieren und parallel in Form einer Aggregationskurve digital aufzuzeichnen. Die in einer Küvette befindliche Probe bleibt während der Messung durch einen Magnetrührer permanent in Bewegung und wird gleichzeitig bei 37°C inkubiert. Erfolgt nun die Zugabe aggregationsfördernder Substanzen, kommt es in der Probe zur Bildung von Plättchenaggregaten und somit zu einer messbaren Dichteabnahme. In Abhängigkeit von der Zeit kann die Trübungsänderung der Suspension nun also in Form einer Kurve visualisiert und entsprechend vergleichbar gemacht werden. Das Aggregometer wurde zur Festlegung eines Nullwertes mit dem jeweiligen PRP und für den Maximalwert mit dem jeweiligen PAP des Patienten geeicht.

2.3.2. Einsatz von Stimulantien in der Aggregation

Ein Messdurchlauf im verwendeten Aggregometer erforderte jedes Mal ein Probenvolumen von 250 µl, welches sich aus 200 µl PRP (bzw. PAP für die Eichung des Geräts) und 50 µl TM-Puffer zusammensetzte. Pro Durchgang konnten am verwendeten Aggregometer parallel vier Aggregationsstimulationen initiiert werden. Diese Proben wurden dann in ihren Küvetten für 4 Minuten bei 37°C im Aggregometer inkubiert und anschließend für weitere 2 Minuten im Aggregometer mittels Magnetrührer (1000U/min, 37°C) gerührt. Nach Ablauf dieser insgesamt 6 Minuten erfolgte dann die Stimulation der Plättchen durch je 5 µl 500 µM AA, 20 µM ADP, 10 µM TRAP-6 und 2 µg/ml Kollagen, woraufhin die Aggregation startete.

Innerhalb der folgenden 4 Minuten erfolgte dann die Aufzeichnung der Dichteänderung der Suspension. Danach stoppte das Gerät die Messung eigenständig und errechnete das Maximum of Aggregation (MoA[%]) und die Steigung [cm/min] der Aggregationskurve.

2.3.3 Auswertung und Interpretation der Aggregationskurven

Die Aufzeichnung und Berechnung der Aggregationskurven erfolgten durch die LPC-Software. Diese visualisierte anhand der Steigung und der Amplitude (MoA) der Kurve die Intensität der Lichttransmission. So konnte eine Quantifizierung der Aggregation durch die verschiedenen Stimuli erfolgen. Typischerweise erfolgt zu Beginn einer solchen Aggregationskurve zunächst ein sogenannter „shape change“ der Plättchen (s. Abb. 5), ausgelöst durch die Ausbildung von Pseudopodien der Thrombozytenmembran. Dadurch schlägt die Kurve zunächst in den negativen Bereich aus. Kommt es zu einer Aggregation der Plättchen, so steigt die Kurve anschließend abhängig von der Intensität der Stimulation entsprechend steil an.
Die Änderung in der Lichtdurchlässigkeit von der nicht-aggregierten Suspension, welche die geeichte Nulllinie darstellt, bis hin zum MoA wird in Referenz zu der PAP-Probe des Patienten gesetzt, welche als maximale Lichtdurchlässigkeit gewertet wird.

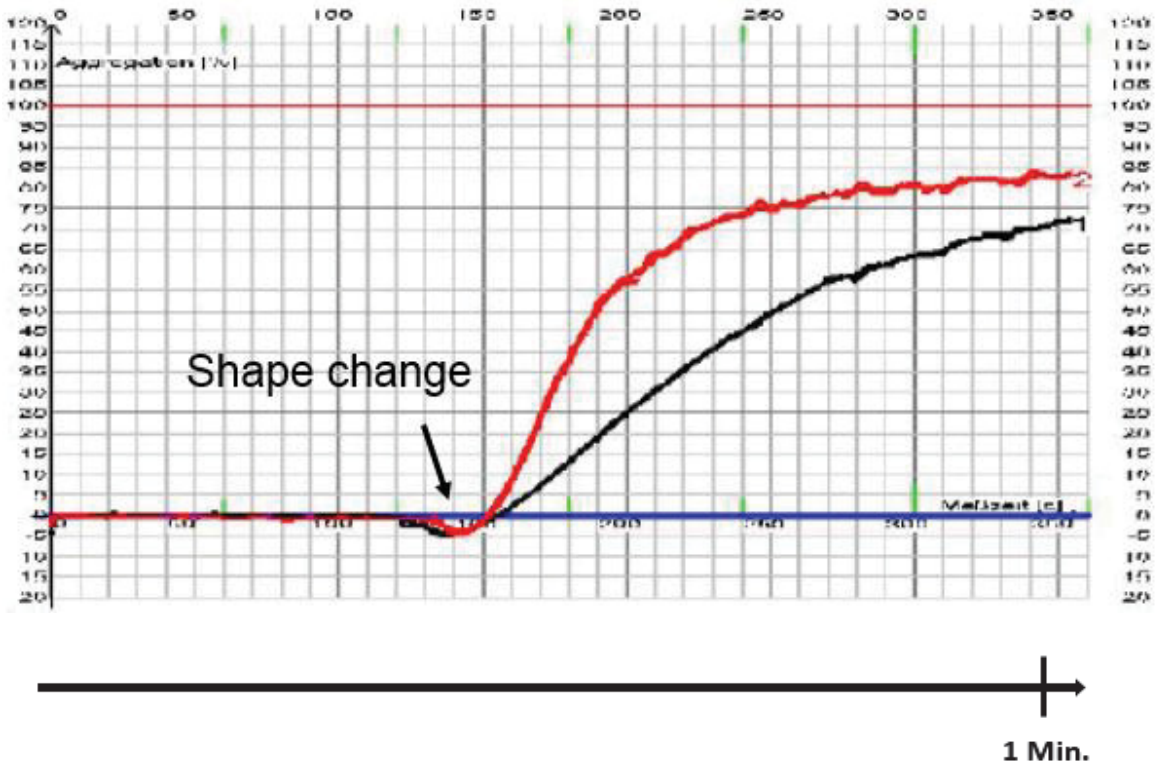


Abb. 5: Aggregationskurven aus laborinternen Messungen mit „Shape change“ bei Stimulation.

2.3.4. Messung der Rezeptorexpression

Die Quantifizierung der Thrombinrezeptordichte auf den Thrombozyten erfolgte mittels Durchflusszytometrie am FACS Gallios® (Beckman Coulter, Krefeld, Deutschland). Hierbei werden die Thrombozyten mittels eines speziellen fluoreszierenden Thrombinrezeptor-Antikörpers (AK) angefärbt und einzeln durch eine Kapillare gesogen, in welcher verschiedenfarbige Laserstrahlen auf die Zelle treffen. Die Zellen werden dadurch angeregt und emittieren auf diese Weise Signale, die ihre numerische Erfassung ermöglichen. Zur Anwendung kamen hierbei zwei verschiedene PAR-1-AK, sowie ein PAR-4-AK. Bei den PAR-1-AK handelte es sich zum einen um den AK SPAN12 (Anti-Thrombin-Receptor PE AK, Beckman Coulter, Villepinte, Frankreich), welcher spezifisch an die ungespaltene und somit noch nicht durch eine Serinprotease aktivierte Rezeptorform bindet. Zum anderen verwendeten wir den unspezifischen AK ATAP2 (Thrombin R (ATAP2) FITC AK, Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Deutschland), welcher sowohl an die gespaltene als

auch an die ungespaltene Form des PAR-1-Rezeptors binden kann. Des Weiteren kamen ein PAR-4-bindender AK zum Einsatz (Alomone Labs, Jerusalem, Israel), sowie ein CD41-AK (CD41-APC AK Beckman Coulter, Villepinte, Frankreich), der der Identifikation der Thrombozyten diente. Als entsprechendes Pendant zu jedem der genannten AK wurden als Negativkontrollen den Fluoreszenzen entsprechende Isotypen eingesetzt.

Die Vorbereitung der Messungen beinhaltete zunächst, wie schon für die Aggregometrie beschrieben, die Herstellung von PRP. Währenddessen konnten die Antikörper zu je 1 µl für die einzelnen Proben in Eppendorf®-Cups pipettiert werden, auf welche dann jeweils 5 µl PRP gegeben werden konnten. Zur Ausführung dieser beiden Schritte wurde eine 10er Pipette (Eppendorf, Hamburg, Deutschland) verwendet. Anschließend erfolgte eine 30-minütige Inkubation der Proben in Dunkelheit in einem Heizblock bei 37°C. Nach erfolgter Inkubation wurden die Proben dann durch die Zugabe von 1 µl 4%igem Paraformaldehyd (PFA, Sigma, Steinheim, Deutschland) fixiert und für weitere zehn Minuten in Dunkelheit, aber diesmal bei Raumtemperatur inkubiert. Als letzter Schritt wurden die Proben dann mit je 1 ml Isoton (Isoton II BD FACSFlow Beckman Coulter, Krefeld, Deutschland) aufgefüllt, mit einer 1000er Pipette (Eppendorf, Hamburg, Deutschland) durchmischt und als 500 µl Aliquots in Messröhrchen (Beckman Coulter, Villepinte, Frankreich) pipettiert und anschließend im FACS Gallios® gemessen.

2.3.5 Auswertung und Interpretation der Rezeptorexpression

Die Auswertung der mittels des FACS Gallios® gemessenen Thrombinrezeptordichte auf den Thrombozyten erfolgte mittels der Software Kaluza® von Beckman-Coulter. Mittels Eingrenzung auf die auf den Thrombozyten befindlichen Rezeptoren (sog. gating der Zellen), konnte eine Quantifizierung der Rezeptor-positiven Zellen in % erfolgen.

2.3.6 Statistische Auswertung

Die Auswertung der Daten beider Studien erfolgte durch die GraphPad Prism® Software (GraphPad Software Inc, San Diego, USA) und der IBM SPSS® Software (NewYork, USA). Um eine Standardverteilung der Daten zu ermitteln, verwendeten wir Histogramme, sowie den Kolmogorov-Smirnov-Test und q-q-Plots. Normalverteilte Daten wurden mittels gepaartem t-Test analysiert, nicht-normalverteilte Daten mittels Wilcoxon matched pairs test. Im Fall der Normalverteilung wurden zur deskriptiven Statistik die erhobenen Daten als Mittelwerte ± dem Standardfehler des Mittelwertes (SEM) von der Anzahl (n) der Versuche angegeben. Ein Konfidenzintervall (CI) wurde mit 95% nach Altman gewählt. Bei fehlender Normalverteilung wurden die metrischen Daten durch den Median, sowie den minimalen und maximalen Wert beschrieben. P-Werte <0.05 wurden als statistisch signifikant angesehen.

3. Ergebnisse

3.1 Studienpopulationen

Zunächst soll hier auf die Verteilung der verschiedenen Patientencharakteristika in der Population der Follow-up-Studie eingegangen werden, in welcher telefonisch eine Erfassung von Endpunkten erfolgt ist. Diese Population von insgesamt 72 Patienten setzte sich aus 36 Patienten in der Aspirin-Gruppe mit einer permanenten *low-dose* Aspirin-Medikation (100 mg/Tag) und einer ebenfalls 36 Patienten umfassenden Aspirin-Metamizol-Gruppe zusammen, welche zusätzlich zu ihrer *low-dose* Aspirin-Medikation auch mit unterschiedlichen Dosen Metamizol therapiert wurden. In der Aspirin-Gruppe lag das durchschnittliche Alter der Patienten bei 76 Jahren, 39% von ihnen waren männlich. In der Patientengruppe, welche parallel Aspirin und Metamizol einnahm lag das Durchschnittsalter bei 77 Jahren bei einem männlichen Anteil von 50%. Die Prävalenz der *baseline characteristics*, der kardiovaskulären Risikofaktoren und der Vorerkrankungen war in beiden Gruppen etwa ähnlich (Tabelle 1). Für 18 Patienten der Aspirin-Gruppe (3 STEMI, 10 NSTEMI, 5 instabile Angina pectoris), sowie für 12 Patienten in der Aspirin-Metamizol-Gruppe (6 NSTEMI, 6 instabile Angina pectoris) war ein Akutes Koronarsyndrom (ACS) der Grund für die stationäre Aufnahme. Die verbleibenden Patienten präsentierten sich bei Aufnahme mit einer stabilen koronaren KHK. Zwischen der klinischen Manifestation der KHK, den Symptomen und der Anzahl erkrankter Gefäße konnte innerhalb der beiden Gruppen ebenfalls kein deutlicher Unterschied aufgewiesen werden (Tabelle 2). Verglichen mit 44% (16 Patienten) in der Aspirin-Metamizol-Gruppe konnten in der Aspirin-Gruppe insgesamt 42% (15 Patienten) mittels PCI behandelt werden. Keiner der eingeschlossenen Patienten wurde durch koronaren Bypass therapiert. In der Auswahl des Stent-Typen (*bare-metal stent* vs. *drug eluting stent*), dem Erfolg der Intervention, der Anzahl an Stents und den Zielgefäßen gab es zwischen den Gruppen ebenfalls keine statistischen Unterschiede. Die Medikation durch Metamizol in der Aspirin-Metamizol-Gruppe erfolgte bei diesen Patienten permanent aufgrund chronischer Schmerzen. Hierbei

unterlagen die Wahl der Metamizol-Dosierung und dessen Einnahmeintervalle der klinischen Indikation und wurde durch das Studienprotokoll nicht kontrolliert oder beeinflusst. Hierbei variierten die Einnahmeintervalle von einmal all 6 Stunden bis einmal alle 24 Stunden, die täglichen Dosen von 0,5 g bis 3 g pro Tag. Als Quelle der chronischen Schmerzen galten vorrangig das muskoloskelettale System (30 Patienten; 83%), des Weiteren aber auch Kopfschmerzen (2 Patienten), periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK; 2 Patienten), Krebs (1 Patient) und neuropathische Schmerzen (1 Patient). Auch in der Aspirin-Gruppe litten 21 Patienten (58%) unter chronischen Schmerzen, weshalb 18 von ihnen intermittierend oder auch dauerhaft auf eine anderweitige (nicht Metamizol) Schmerzmedikation zurückgriffen. Ähnlich wie in der Vergleichsgruppe wurden die chronischen Schmerzen auch hier vor allem durch muskuloskelettale Dysfunktionen (15 Patienten), des Weiteren aber auch durch neuropathische Schmerzen (3 Patienten), pAVK (2 Patienten) und Krebs (1 Patient) hervorgerufen. Abgesehen von der analgetischen Therapie unterschieden sich die beiden Gruppen in ihrer Komedikation nicht (Tabelle 2).

	Aspirin-Gruppe (N=36)	**Aspirin+Metamizol-Gruppe (N=36)**	**P-Wert***
Patientencharakteristika			
Alter - Jahre (mean ± S.D.)	76±13	77±10	0.65
Männliches Geschlecht – Anzahl (%)	22 (61%)	18 (50%)	0.34
Body mass index (mean ± S.D.)	27±4.6	25±3.7	0.11
Kardiovaskuläre Risikofaktoren -Anzahl (%)			
Arterielle Hypertension	36 (100%)	36 (100%)	>0.99
Hypercholesterinämie	23 (64%)	27 (75%)	0.31
Diabetes mellitus	12 (33%)	11 (31%)	0.8
Adipositas (body mass index > 30)	8 (22%)	5 (14%)	0.36

Raucher (aktuell)	6 (17%)	6 (17%)	>0.99
Andere medizinische Ereignisse – Anzahl (%)			
Vorangegangener Myokardinfarkt	16 (44%)	22 (61%)	0.16
Vorangegangene Bypass-OP	9 (25%)	10 (28%)	0.79
Vorangegangener Schlaganfall	4 (11%)	4 (11%)	>0.99
Reduzierte systolische LV-Funktion[†]	16 (44%)	22 (61%)	0.16
Eingeschränkte Nierenfunktion bei Aufnahme	25 (69%)	21 (58%)	0.33
Vorhofflimmern	10 (28%)	10 (28%)	>0.99

Tabelle 1: Baseline characteristics der Patienten während ihres stationären Aufenthalts auf einer Station der Klinik für Kardiologie, Universitätsklinikum Düsseldorf.

	Aspirin-Gruppe (N=36)	**Aspirin+Metamizol Gruppe (N=36)**	**P-Wert[*]**
Klinische Anzeichen – Anzahl (%)			
ST-Hebungsinfarkt (STEMI)	3 (8%)	0 (0%)	0.08
Non ST-Hebungsinfarkt (NSTEMI)	10 (28%)	6 (17%)	0.26
Instabile Angina pectoris	5 (14%)	6 (17%)	0.74
Stabile KHK	8 (22%)	8 (22%)	>0.99
Angina pectoris – Anzahl (%)			
CCS IV	8 (22%)	8 (22%)	>0.99
CCS III	4 (11%)	7 (19%)	0.33
CCS II	6 (17%)	3 (8%)	0.29
CCS I	3 (8%)	1 (3%)	0.30

Keine Angina pectoris	15 (42%)	17 (47%)	0.64
Dyspnoe– Anzahl (%)			
NYHA IV	6 (17%)	4 (11%)	0.5
NYHA III	16 (44%)	16 (44%)	>0.99
NYHA II	9 (25%)	11 (31%)	0.6
NYHA I	5 (14%)	5 (14%)	>0.99
Erkrankte Gefäße – Anzahl (%)			
3-Gefäß-KHK	23 (64%)	24 (67%)	0.80
2-Gefäß-KHK	4 (11%)	4 (11%)	>0.99
1-Gefäß-KHK	3 (8%)	3 (8%)	>0.99
Mikroangiopathie	6 (17%)	5 (14%)	0.74
Medikation – Anzahl (%)			
Aspirin	36 (100%)	36 (100%)	>0.99
Metamizol	0 (0%)	36 (100%)	<0.001
NSAIDs	18 (50%)	0 (0%)	<0.001
P2Y12 Inhibitoren	27 (75%)	27 (75%)	>0.99
ACE- /AT-II-Rezeptor- Blocker	24 (67%)	32 (89%)	0.02
Beta-Blocker	28 (78%)	32 (89%)	0.20
Calcium-Kanal-Blocker	13 (36%)	18 (50%)	0.23
Aldosteron-Antagonisten	7 (19%)	6 (17%)	0.76
Herzglycoside	1 (3%)	1 (3%)	>0.99
Protonenpumpen-Inhibitoren	25 (69%)	22 (61%)	0.46
Statine	25 (69%)	25 (69%)	>0.99
Orale Antidiabetika	5 (14%)	3 (8%)	0.45

Insuline	6 (17%)	8 (22%)	0.55
Urikosurika	8 (22%)	6 (17%)	0.55

Tabelle 2: Klinische Manifestation der Erkrankung der Patienten und ihre Komedikation während ihres stationären Aufenthalts auf einer Station der Klinik für Kardiologie, Universitätsklinikum Düsseldorf.

Die zweite, klinisch durchgeführte Studie umfasste eine Studienpopulation von insgesamt 13 Patienten, welche während eines stationären Aufenthalts auf einer kardiologischen Station der Universitätsklinik Düsseldorf rekrutiert wurden. Alle 13 Patienten besaßen eine Indikation zur oralen Antikoagulation bei Vorhofflimmern. Das Durchschnittsalter in der betrachteten Population betrug 69 (+/- 11) Jahre, vier von ihnen (31%) waren männlichen Geschlechts. Als kardiovaskuläre Risikofaktoren lagen bei 77% (10 Patienten) eine arterielle Hypertension und bei 8% (1 Patient) eine Erkrankung an Diabetes mellitus vor, 31% (4 Patienten) waren zum Zeitpunkt der Erhebung aktive Raucher. Vier der 13 Patienten (31%) erhielten im Rahmen der Studie zur Antikoagulation 110 mg Dabigatran, neun Patienten (69%) erhielten eine Dosis von 150 mg Dabigatran. Eine strukturierte Auflistung der Patientencharakteristika dieser Studie bietet Tabelle 3. Tabelle 4 bietet einen Überblick über die Komedikation der Patienten während ihres stationären Aufenthaltes.

Patientencharakteristika

Alter - Jahre (mean ± S.D.)	69±11
Männliches Geschlecht – Anzahl (%)	4 (31%)
Body mass index (mean ± S.D.)	28±6

Kardiovaskuläre Risikofaktoren -Anzahl (%)	
Arterielle Hypertension	10 (77%)
Diabetes mellitus	1 (8%)
Adipositas (body mass index > 30)	5 (38%)
Raucher (aktuell)	4 (31%)
Andere medizinische Ereignisse – Anzahl (%)	
Vorangegangener Myokardinfarkt	2 (16%)
Vorangegangene Bypass-OP	1 (8%)
Koronare Herzkrankheit (KHK)	6 (46%)
Vorangegangener Schlaganfall	2 (16%)
Reduzierte systolische LV-Funktion (EF <40%)	2 (16%)
Eingeschränkte Nierenfunktion bei Aufnahme	6 (46%)

Tabelle 3: Baseline characteristics der Patienten während ihres stationären Aufenthalts auf einer Station der Klinik für Kardiologie, Universitätsklinikum Düsseldorf.

Medikation – Anzahl (%)	
Aspirin	2 (16%)
Clopidogrel	1 (8%)
ACE- /AT-II-Rezeptor- Blocker	10 (77%)
Betablocker	11 (85%)
Calcium-Kanal-Blocker	4 (31%)
Diuretika	8 (62%)

Statine	8 (62%)
Protonenpumpen-Inhibitoren	7 (54%)
Orale Antidiabetika	1 (8%)

Tabelle 4: Komedikation der Patienten während ihres stationären Aufenthalts auf einer Station der Klinik für Kardiologie, Universitätsklinikum Düsseldorf

3.2 Aspirin vs. Aspirin + Metamizol: Ein Vergleich von Endpunkten

Während einer mittleren Follow-up-Dauer von 3,2 Jahren kam es bei 24 von 36 Patienten (67%) in der Aspirin-Metamizol-Gruppe zum Eintreffen eines der zuvor festgelegten primären Endpunkte (Tod, Myokardinfarkt, Schlaganfall), während dies nur auf 11 der 36 Patienten (31%) zutraf, die Aspirin allein einnahmen (odds ratio, 4.5; 95% CI, 1.7 bis 12.3; P=0.0028; hazard ratio, 2.81; 95% CI, 1.42 bis 5.53; P=0.0029) (Tabelle 3, Abbildung 5). Die Mortalität war in der Aspirin-Metamizol-Gruppe (16 Patienten, 44%) insgesamt höher als in der Aspirin-Gruppe (8 Patienten, 22%); (odds ratio, 2.8; 95% CI, 1.01 bis 7.8; P=0.049; hazard ratio, 2.29; 95% CI, 1.03 bis 5.14; P = 0.042) (Tabelle 3 and Abbildung 6). Als Haupttodesursache galt in beiden Gruppen der Tod aufgrund kardiovaskulärer Ereignisse (14 von 16 Todesfällen [88%] in der Aspirin-Metamizol-Gruppe und 7 von 8 Todesfällen [88%] in der Aspirin-Gruppe). Todesfälle, die nicht auf kardiovaskuläre Ursachen zurückzuführen waren, waren bösartige Tumorerkrankungen (jeweils ein Patient pro Gruppe) und Infektion (ein Patient in der Aspirin-Metamizol-Gruppe verstarb an einer Lungenentzündung) (Tabelle 3). In Bezug auf den Effekt von Metamizol auf die Inzidenz von Myokardinfarkten gab es keinen signifikanten Unterschied, obwohl dieser rein numerisch häufiger in der Gruppe auftrat, welche mit Metamizol komediziert wurde (6 Patienten [17%] in der Aspirin-Metamizol-Gruppe vs. 3 Patienten [8%] in der Aspirin-Gruppe; odds ratio, 2.2; 95% CI, 0.5 bis 9.58; P = 0.29; hazard ratio, 1.85; 95% CI, 0.5 bis 6.85; P = 0.36) (Tabelle 5 und Abbildung 7). Des Weiteren zeichnete sich ein Trend in Richtung einer erhöhten Inzidenz von Schlaganfällen in der Aspirin-Metamizol-Gruppe ab (6 Patienten [17%] vs. 1 Patient

[3%]; odds ratio, 7; 95% CI, 0.8 bis 61.5; P = 0.079; hazard ratio, 3.9; 95% CI, 0.88 bis 17.25; P = 0.073) (Tabelle 3 und Abbildung 8). Auch insgesamt kam es im Vergleich mit den Patienten unter alleiniger Aspirintherapie in der Aspirin-Metamizol-Gruppe häufiger zu ischämischen Ereignissen wie Myokardinfarkt und Schlaganfall (12 Patienten [33%] vs. 4 Patienten [11%]; odds ratio, 3.5; 95% CI, 1 bis 12.4; P = 0.03) (Tabelle 5). Die Patienten der Aspirin-Gruppe waren häufiger mit NSAIDs komediziert (18 Patienten [50%] vs. 0 Patienten [0%]; P<0.001). Nach Kontrolle der Effekte der NSAID-Medikation ergab eine Varianzanalyse einen signifikanten Zusammenhang zwischen einer Komedikation mit Metamizol von Patienten unter Aspirintherapie und den primären Endpunkten (F [1, 69] = 6.1; P = 0.016).

	Aspirin-Gruppe (N=36)	**Aspirin+Metamizol-Gruppe (N=36)**	**Odds Ratio (95%CI)**	**P-Wert***
Primärer Endpunkt– Anzahl (%)				
Tod, MI oder Schlaganfall/TIA	11 (31%)	24 (67%)	4.5 (1.7-12.3)	0.0028
Sekundärer Endpunkt – Anzahl (%)				
Tod	8 (22%)	16 (44%)	2.8 (1.01-7.8)	0.049
kardiovaskulärer Ursachen	7 (19%)	14 (39%)	2.64 (0.91-7.63)	0.074
Nicht-kardiovaskulärer Ursachen	1 (3%)	2 (6%)	2.06 (0.18-23.7)	0.563
Infektion	0 (0%)	1 (3%)		
Krebs	1 (3%)	1 (3%)		
MI	3 (8%)	6 (17%)	2.2 (0.5-9.58)	0.29

ST- Hebungsinfarkt	0 (0%)	0 (0%)		
Non-ST-Hebungsinfarkt	3 (8%)	6 (14%)		
Schlaganfall	1 (3%)	6 (17%)	7 (0.8-61.5)	0.079
Schlaganfall	1 (3%)	4 (11%)		
TIA	0 (0%)	2 (6%)		
Ischämische Ereignisse (MI + Schlaganfall)	4 (11%)	12 (33%)	4 (1.1-14)	0.03

Tabelle 5: Erreichte Endpunkte der Studie.

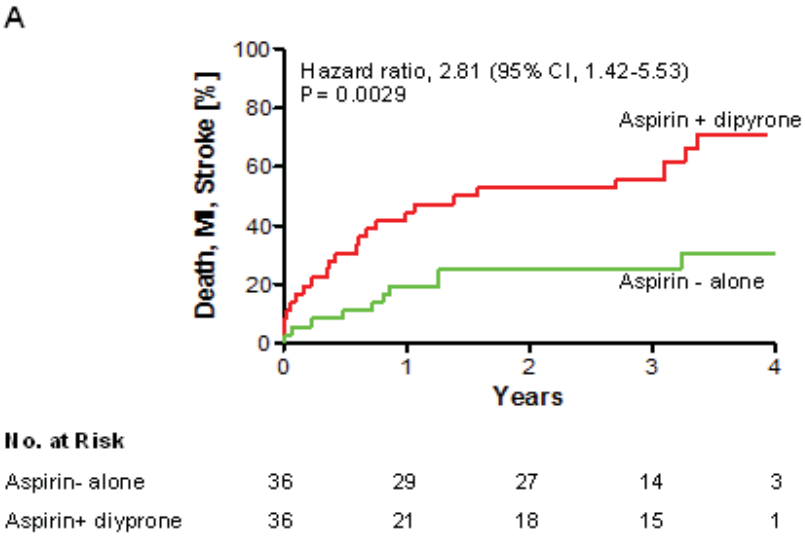
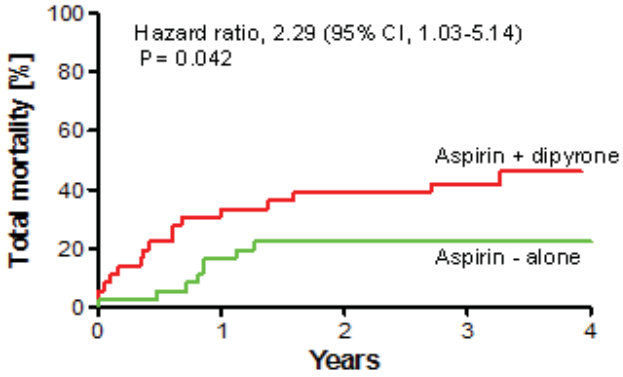


Abb. 5: Darstellung aller Endpunkte (Tod, MI und Schlaganfall) in % in der ASS-Metamizol-Gruppe (rote Kurve) und der ASS-Gruppe (grüne Kurve).[28] (Anm.: Dipyrone = Metamizol, s. Einleitung)

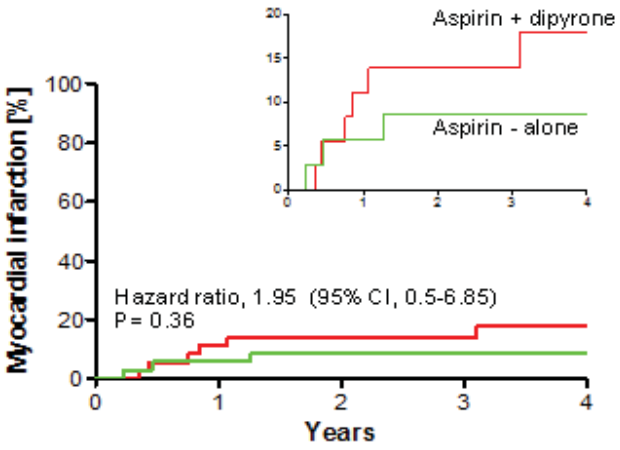
B



No. at Risk					
Aspirin- alone	36	31	30	17	2
Aspirin+ diyprone	36	25	25	17	1

Abb. 6: Darstellung des Endpunktes „Allgemeine Mortalität“ in % in der ASS-Metamizol-Gruppe (rote Kurve) und der ASS-Gruppe (grüne Kurve). [28] (Anm.: Dipyrone = Metamizol, s. Einleitung)

C



No. at Risk					
Aspirin- alone	36	34	33	14	2
Aspirin+ diyprone	36	33	32	22	1

Abb. 7: Darstellung des Endpunktes „Myokardinfarkt“ in % (untere Abbildung) und als absolute Anzahl (obere Abbildung) in der ASS-Metamizol-Gruppe (rote Kurve) und der ASS-Gruppe (grüne Kurve). [28] (Anm.: Dipyrone = Metamizol, s. Einleitung)

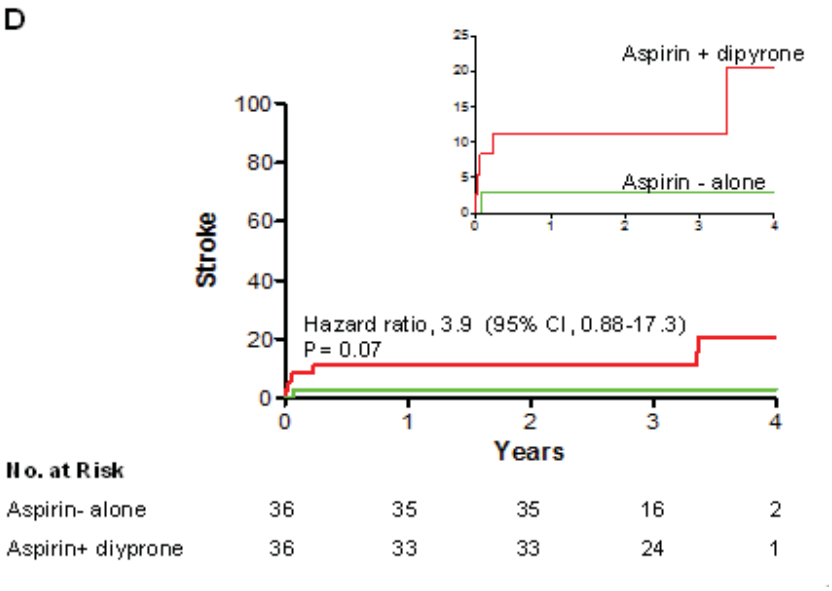


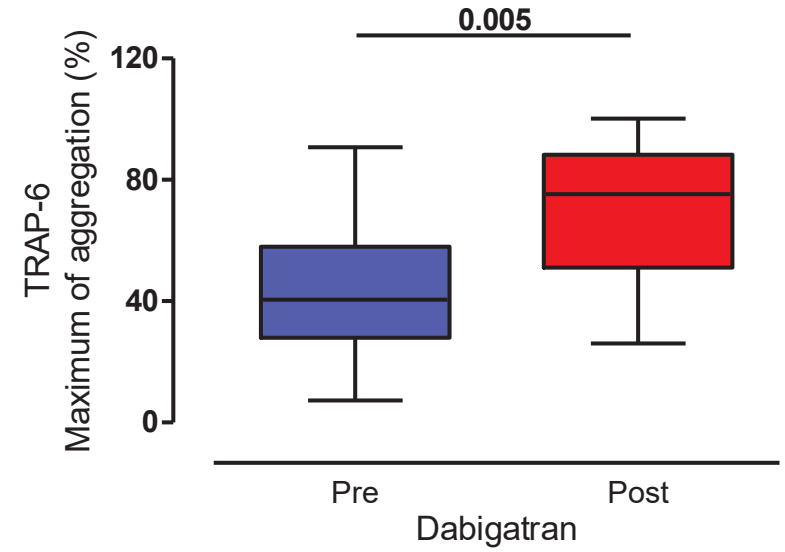
Abb. 8: Darstellung des Endpunktes „Schlaganfall“ in % (untere Abbildung) und als absolute Anzahl (obere Abbildung) in der ASS-Metamizol-Gruppe (rote Kurve) und der ASS-Gruppe (grüne Kurve). [28] (Anm.: Dipyrone = Metamizol, s. Einleitung)

3.3 Plättchenreaktivität und Thrombinrezeptorexpression unter Dabigatran-therapie

Die TRAP-induzierte Plättchenreaktivität in der mittels LTA gemessenen Aggregation unserer Patienten war nach initialer Einnahme von Dabigatran im Vergleich zu vorher signifikant erhöht (vorher: 44±24% vs. nachher: 70±25%, P=0.005; Mittelwertdifferenz -25%, 95% CI -9% bis -41%) (Abbildung 9). Dazu passend stieg auch die Dichte der Thrombinrezeptoren PAR-1 und PAR-4 auf der Oberfläche der Thrombozyten mit Beginn der antikoagulatorischen Therapie an (PAR-1: vorher: 63±11% vs. nachher: 70±10%, P<0.0001, Mittelwertdifferenz -7%, 95%CI -5% bis -10%; PAR-4: vorher: 1.1±0.5% vs. nachher: 1.6±0.9%, P=0.03; Mittelwertdifferenz -0.5%, 95%CI -0.1% bis -1%) (Abbildung 11). Für die mit Kollagen, AA und ADP stimulierte Aggregation zeigte sich im Vorher-Nachher-Vergleich kein signifikanter Unterschied (Kollagen: vorher: 70±20% vs. nachher: 76±24%, P=0.48, Mittelwertdifferenz -7%, 95%CI -28% bis 14%; AA: vorher: 8±6% vs. nachher: 8±4%, P=0.97, Mittelwertdifferenz 0.1%, 95%CI -4% bis 4%; ADP:

vorher: 62±25% vs. nachher: 58±33%, P=0.65, Mittelwertdifferenz 4%, 95%CI -15% bis 23%) (Abbildung 10). In der linearen Regressionsanalyse korrelierte die TRAP-induzierte Aggregation mit der PAR-1-Rezeptordichte auf den Thrombozyten (beta=0.41; 95% CI 0.06 bis 1.98; p=0.04), im Gegensatz zu der durch Kollagen, AA und ADP ausgelösten Aggregation (Kollagen: beta=0.34; 95% CI -1.2 bis 1.6; p=0.09; AA: beta=0.03; 95% CI -0.18 bis 0.21; p=0.84; ADP: beta=0.22; 95% CI -0.5 to 1.66; p=0.28). Die PAR-4-Rezeptordichte stand mit keinem der vier Stimuli in Korrelation zur Höhe der ausgelösten Aggregation (TRAP: beta=0.37; 95% CI -0.9 bis 26; p=0.07; Kollagen: beta=0.22; 95% CI -6.7 bis 17; p=0.38; AA: beta=0.29; 95% CI -0.75 bis 4.4; p=0.16; ADP: beta=0.31; 95% CI -3.3 bis 25; p=0.13).

A



B

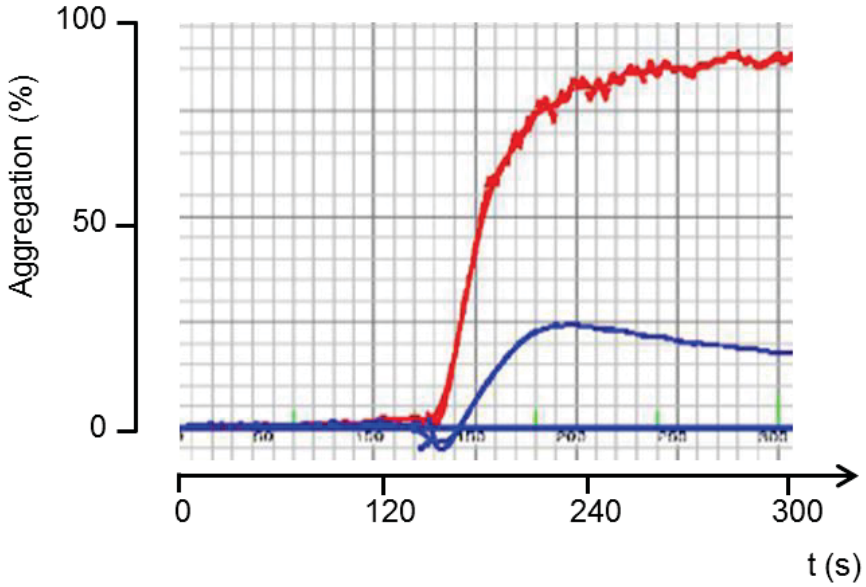
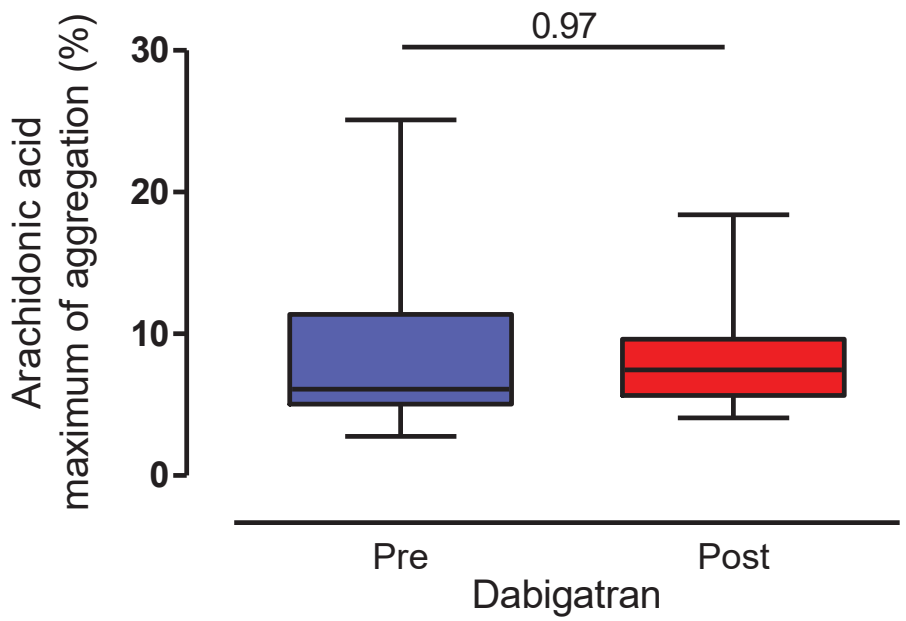
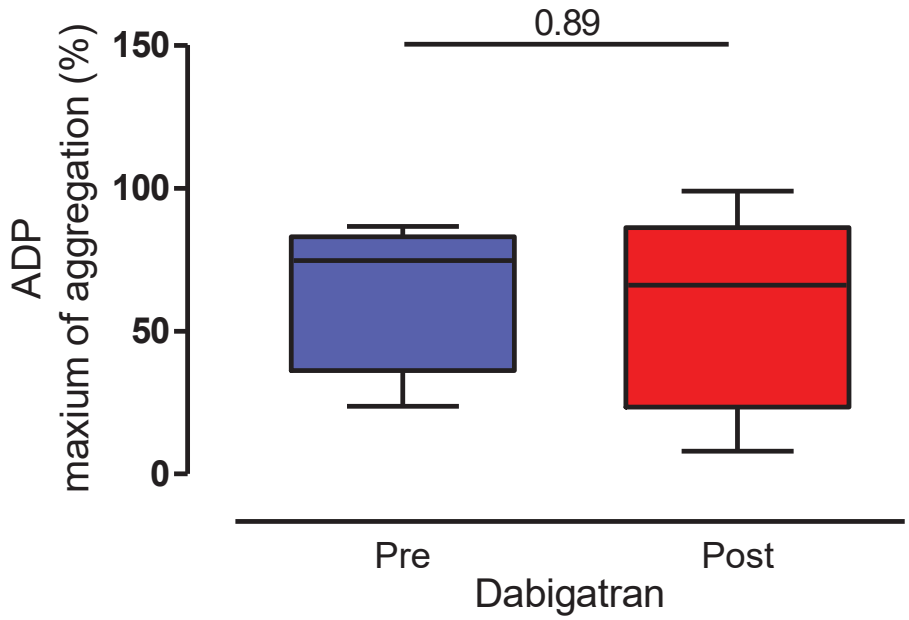


Abb. 9: TRAP-6-induzierte Aggregation in der Lichttransmissionsaggregometrie (LTA) vor (blauer Balken und Kurve) und nach (roter Balken und Kurve) initialer Dabigatrantherapie. A: Maximum of Aggregation. B: Aggregationskurven.

A


0.97
30
20
10
0
Arachidonic acid
maximum of aggregation (%)
Pre
Post
Dabigatran

B


0.89
150
100
50
0
ADP
maxium of aggregation (%)
Pre
Post
Dabigatran

C

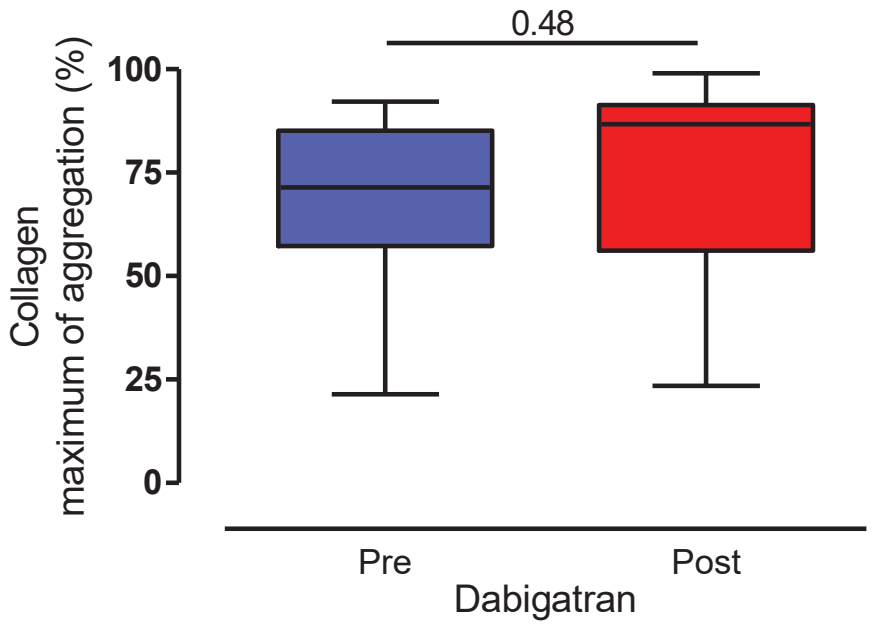
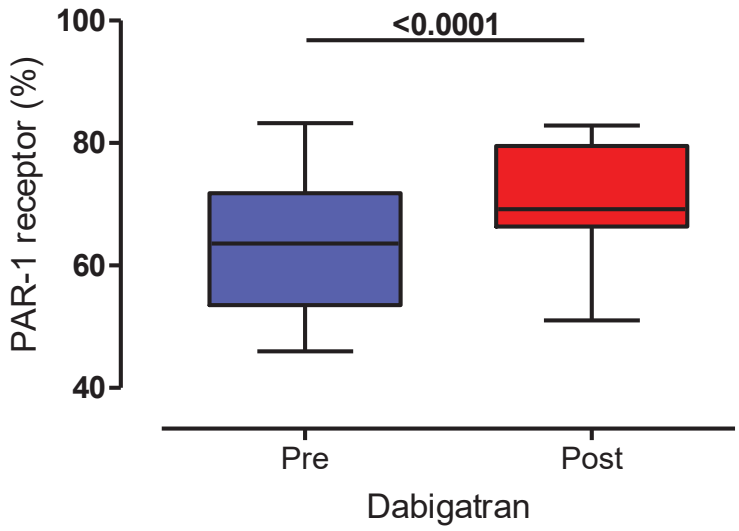


Abb. 10: Lichttransmissionsaggregometrie (LTA) vor und nach initialer Dabigatrangabe induziert durch AA (A), ADP (B) und Kollagen (C).

A



B

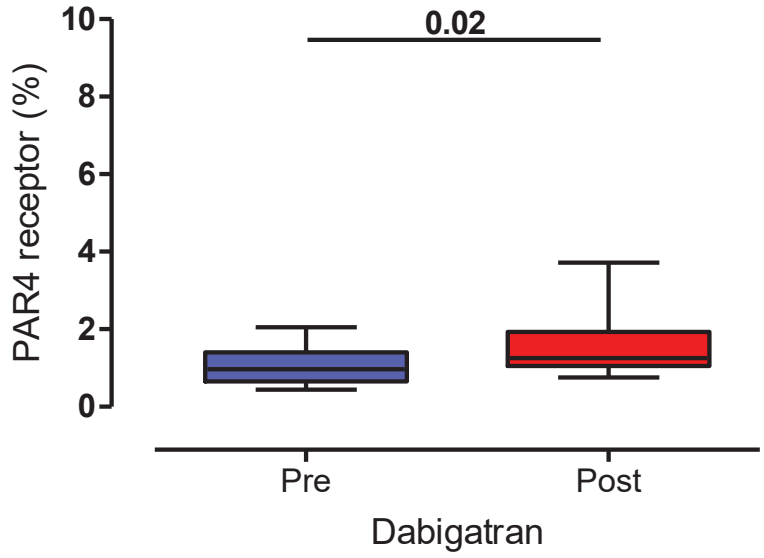


Abb. 11: Thrombozytäre Thrombinrezeptorexpression vor und nach initialer Dabigatrangabe (A: PAR-1 und B: PAR-4).

4. Diskussion

4.1 Bedeutung einer verminderten ASS Wirkung

In der oben unter dem Punkt 3.2: „Aspirin vs. Aspirin + Metamizol: Ein Vergleich von Endpunkten“ geführten Studie beschreiben wir den Zusammenhang zwischen einer Komedikation von Aspirin und Metamizol und einer erhöhten Inzidenz des kombinierten Endpunktes Tod, Myokardinfarkt und Schlaganfall. Wir konnten zeigen, dass die Kombination beider Medikamente im Vergleich zu einer Aspirin-Monotherapie die Inzidenz für alle drei Endpunkte steigert. Außerdem zeigte sich in der komedizierten Gruppe eine erhöhte Gesamtmortalität, welche in 88% der Fälle auf kardiovaskuläre Ereignisse zurückzuführen war. Als Vergleich diente eine Patientenkohorte unter Aspirin-Monotherapie. Jeder einzelne dieser Patienten litt unter der Diagnose KHK und wurde zur Sekundärprophylaxe leitliniengerecht mittels ASS therapiert.[29] Trotzdem konnten wir zuletzt sowohl *in vitro*, als auch *ex vivo* eine verminderte pharmakodynamische Antwort auf Aspirin demonstrieren.[17, 18] Ob diese jedoch ein Phänomen darstellt, welches sich rein im Labor reproduzieren lässt, oder ob sie auch Einfluss auf den klinischen Outcome der betroffenen Patienten nimmt wurde in den vergangenen zehn Jahren kontrovers diskutiert. So existieren mittlerweile verschiedenste Metaanalysen und große Registerstudien, welche eben einen solchen Zusammenhang postulieren.[13, 30] Entsprechend überraschte die Tatsache nicht sonderlich, dass sich neben einer erhöhten kardiovaskulären Mortalität auch die Inzidenz für das Auftreten von MI und Schlaganfall in der Aspirin- und Metamizol-komedizierten im Vergleich zu der Aspirin-Gruppe erhöht zeigten. Auch der kombinierte Endpunkt aus beiden Ereignissen kam in dieser Gruppe häufiger vor. Wie schon zuvor erwähnt liegt eine mögliche Ursache hierfür in der reversiblen Bindung des aktiven Metaboliten des Metamizols, dem MAA (Methylaminoantipyrin), an das aktive Zentrum der COX-1. Diese Bindungsstelle scheint sich mit der des Aspirins zu überlappen und behindert so die dauerhafte Acetylierung des Serins 530 durch die ASS. Somit scheint der ASS die Möglichkeit

der irreversiblen Hemmung der COX-1 für die restliche Lebensdauer des Plättchens genommen zu sein.[31-34]

Wie schon in der Einleitung erwähnt, ist eine seltene, jedoch gefürchtete Nebenwirkung des Metamizols außerdem eine Störung der Blutbildung, die sogenannte Agranulozytose. Dieses Krankheitsbild geht in den meisten Fällen mit schweren, oft lebensbedrohlichen Infektionen einher.[23] In unserer Studie verstarb einer der Patienten an einer Pneumonie, also an einer infektiologischen Ursache. In Rücksprache mit dem behandelnden Arzt konnte hier allerdings kein Anhalt für eine Agranulozytose eruiert werden. Vielerorts auf der Welt ist Metamizol aufgrund dieser Komplikation aus dem klinischen Alltag verschwunden. In bestimmten Ländern, wie z.B. den USA, wurde der Wirkstoff sogar komplett vom Markt genommen. In unseren Ergebnissen zeigte sich nun aber vor allem ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko für die Patienten, die aufgrund einer KHK mit Aspirin therapiert wurden, gleichzeitig aber aufgrund chronischer Schmerzen regelmäßig Metamizol einnahmen. Diese Entdeckung könnte wichtige Erkenntnisse in vielen großen internationalen, kardiovaskulären Studien beeinflussen und einen entscheidenden Confounder identifizieren. Um zu überprüfen, ob eine Komedikation mit Metamizol einen Einfluss auf die kardiovaskuläre Ereignisrate nimmt, sollte die Erfassung und genaue Dokumentation einer Metamizolgabe auch in großen kardiovaskulären Studien also immer erfolgen.

In Deutschland ist Metamizol trotz international unterschiedlicher Anwendungsfrequenz immer noch ein beliebtes Analgetikum, auch bei KHK-Patienten. Dies liegt unter anderem daran, dass in der Vergangenheit ein erhöhtes Risiko für einen Re-Infarkt und das Versterben von Patienten, die bereits schon einmal einen MI erlitten hatten und neben ASS auch mit nicht-steroidalen Antirheumatika (NSAID) behandelt wurden, gezeigt worden war.[35] Unsere Studie schloss keine Patienten der ASS-Gruppe aus, die nebenbei auch mit NSAID therapiert wurden. So lag bei 50% (18 Patienten) der teilnehmenden Patienten der ASS-Gruppe eine Komedikation mit NSAID vor. Trotzdem waren alle Endpunkte in der ASS-Metamizol-Gruppe erhöht. Laut einer Hypothese von Kurth et al. erhöht allein die regelmäßige Einnahme von NSAID in KHK-Patienten das MI-Risiko, nicht etwa die intermittierende.[36] Da in unserer Studienpopulation lediglich eine zeitlich

begrenzte oder unregelmäßig durchgeführte Komedikation mit NSAID vorlag, könnte hier die Ursache der fehlenden Ausprägung dieses Confounders liegen. Dem entgegen spricht wiederum eine in Dänemark landesweit an mehr als 83.000 KHK-Patienten durchgeführte Studie, welche auch für den Kurzzeitgebrauch von NSAID eine gesteigerte Inzidenz für Tod und Reinfarkt zeigte.[37] Allerdings galt das Design der vorliegenden Studie nicht dem Vergleich von Endpunkten zwischen einer Metamizol- und NSAID-Therapie. Ob der Einsatz der einen oder anderen Medikamentengruppe sich in dieser Fragestellung als vorteilhaft gegenüber der anderen erweist, müsste folglich in weiteren Versuchen beobachtet werden.
Eine fast 4.000 Patienten umfassende Metaanalyse von Kötter et al. befasste sich kürzlich mit der Sicherheit einer kurzzeitigen Anwendung von Metamizol bei akuten Schmerzen. Sie schloss Studien ein, die sich mit dem Vergleich von Metamizol zu einem Placebo, zu Aspirin, anderen NSAID und Opioiden beschäftigten. Hier stellte sich die Anwendung von Metamizol als sicher für die Behandlung von Nierenkoliken oder postoperativen Schmerzen im klinischen Setting dar.[38] Dies erscheint zunächst nicht kohärent mit den Ergebnissen unserer vorliegenden Studie zu sein. Allerdings galt die medikamentöse Kombination aus Aspirin und Metamizol als Ausschlusskriterium der Metaanalyse. Außerdem hatten die eingeschlossenen Patienten ein junges Durchschnittsalter von 45 Jahren und wurden nur im Hinblick auf eine Kurzzeitanwendung des Medikaments untersucht. Die Ergebnisse beider Studien sind somit also kaum zu vergleichen, da unsere Studie vorwiegend ältere Patienten mit chronischen Schmerzen einschloss.

4.2 Limitationen des Follow-up

Bei Erhebung der Daten war uns bewusst, dass in einer Kohorte mit so hohem Durchschnittsalter wie unserer die Inzidenz der untersuchten Endpunkte erhöht sein muss. Somit stellte das Durchschnittsalter der Kohorte ein Bias dar und verminderte die generelle Aussagekraft dieser Studie. Da Metamizol jedoch das am häufigsten verwendete Analgetikum in europäischen Pflegeeinrichtungen ist,[39] könnten unsere Ergebnisse vor allem für diese Zielgruppe eine besondere Bedeutung haben.

Weitere Punkte stellen eine Limitation der beschriebenen Studie dar: Die Komedikation mit P2Y12-Hemmern, sowie mit Statinen war überdurchschnittlich hoch im Vergleich zu einer willkürlich gewählten Population. 75% der Patienten beider Gruppen nahmen zusätzlich P2Y12-Hemmer ein, 69% ein Statin. Außerdem erfolgte das Follow-up lediglich über das Telefon und nicht mittels direktem Arzt-Patienten-Kontakt. Da die Patienten sich zum Zeitpunkt des Follow-ups nicht in klinischer, sondern in ambulanter Therapie befanden, war eine Kontrolle der Medikamenteneinnahme nicht gewährleistet. Somit kann eine Non-Compliance der Patienten ebenfalls einen Störfaktor dargestellt haben. Zuletzt sollte eine generalisierte Aussage über die Bedeutung der Ergebnisse mit Vorsicht genossen werden, da die Teilnehmerzahl der Studie mit 72 Patienten begrenzt war. Dies erlaubte keine adäquate Gliederung der Patientencharakteristika in den jeweiligen Gruppen. Außerdem handelte es sich bei dieser Arbeit nicht um eine randomisiert kontrollierte Studie. Die analgetische Komedikation mit NSAID war in der Aspirin-Gruppe höher als in der Aspirin-Metamizol-Gruppe. Auch wenn es keine signifikanten Unterschiede der Patientencharakteristika in den beiden Gruppen gab, könnten die genannten Störgrößen einen entscheidenden Einfluss auf die Ergebnisse der Studie genommen haben. Dementsprechend ist eine Überprüfung der beschriebenen Ergebnisse in einer randomisiert kontrollierten Studie mit deutlich größerer Fallzahl auf jeden Fall zu empfehlen.

4.3 Der Zusammenhang einer Dabigatranmedikation mit einer erhöhten Plättchenreaktivität

Die Hauptaussage der an zweiter Stelle in dieser Arbeit beschriebenen Studie ist, dass die direkte Thrombinhemmung durch Dabigatran die Plättchenreaktivität erhöht, indem es die Expression von Thrombinrezeptoren auf der Oberfläche der Thrombozyten steigert. Die 2009 veröffentlichte RE-LY Studie gilt als die zentrale Studie für die Wirkung von Dabigatran in Patienten mit Vorhofflimmern. Die Anwendung von 110 mg Dabigatran zeigte gleiche Effekte bezüglich der Schlaganfallprävention mit weniger hämorrhagischen Ereignissen wie VKA. Eine niedrigere Rate an Schlaganfall und systemischer Embolie sogar ließ sich durch die Anwendung von 150 mg Dabigatran erzielen, jedoch mit einem ähnlichen Blutungsrisiko wie unter VKA-Therapie. Da jedoch bei beiden Dosierungen die Inzidenz von Myokardinfarkten erhöht war,[20] wird die Möglichkeit eines erhöhten kardiovaskulären Risikos durch Dabigatran seither diskutiert. Wir konnten in unserer Studie zeigen, dass die Therapie mit Dabigatran zu einem signifikanten Anstieg der Thrombin-induzierten Plättchenreaktivität führt. Dass eine erhöhte Plättchenreaktivität in direktem Zusammenhang mit einem erhöhten MI-Risiko steht, ist uns seit langem bekannt.[40] Da sich die Plättchenreaktivität, ausgelöst durch die Stimulation mittels Kollagen, Arachidonsäure und ADP durch die Dabigatrantherapie nicht verändert zeigte, führten wir die beschriebenen Effekte auf die Wirkung am Thrombinrezeptor zurück. Eine Erklärung hierfür erschloss sich in der Expression der Thrombinrezeptoren auf den Thrombozyten. Das Verständnis des Mechanismus der *thrombin receptor activating petide* (TRAP) induzierten Aggregation gab den entscheidenden Hinweis. Das menschliche Blutplättchen verfügt über zwei unterschiedliche Thrombinrezeptoren, den *protein activated receptor* 1 und 4 (PAR-1 und PAR-4). Die Stimulation beider Rezeptoren führt zu einer Aktivierung des Plättchens.[41] In unserer Arbeit zeigten wir, dass beide Rezeptoren unter Dabigatrantherapie eine Steigerung erfuhren. PAR-4 wird in humanen Plättchen deutlich geringer exprimiert als PAR-1, vermittelt jedoch unter hohen Thrombinkonzentrationen ebenfalls eine Aggregation. Unter physiologischen

Bedingungen allerdings bedingt fast ausschließlich der PAR-1 eine Aktivierung des Plättchens.
Derzeit haben viele verschiedene Wirkstoffe zur Behandlung thromboembolischer Ereignisse den Einzug in den klinischen Alltag gehalten. Individuell das geeignetste Präparat für jeden Patienten herauszufiltern ist eine wahre Herausforderung. So müssen bei der Auswahl viele Aspekte in Betracht gezogen werden, um eine individualisierte Medizin zu gewährleisten.

4.4 Limitationen der Dabigatranstudie

Trotz recht eindeutiger Ergebnisse weist diese Studie auch einige Limitationen auf. Die Studiengröße war relativ gering. Nichtsdestotrotz zeigte sich die TRAP-induzierte Aggregation, ebenso wie die Rezeptorexpression auf den Plättchen rasch signifikant. Durch das Fehlen vorheriger Daten zur Berechnung einer Effektgröße war auch keine Ermittlung einer benötigten Kohortengröße möglich. Des Weiteren wurden unsere Messungen ausschließlich zwölf Stunden nach initialer Einnahme des Medikaments durchgeführt. Ob sich der gleiche Effekt auch als Langzeitwirkung bestätigt, wurde von uns nicht untersucht. Es bräuchte also weitergehende Untersuchungen, um diese Limitationen einzugrenzen und eine Assoziation mit klinischen Ereignissen herzustellen. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Einnahme von Dabigatran zwar die Plättchenreaktivität steigert und zu einer Mehrexpression von Thrombinrezeptoren führt. Jedoch ist der Zusammenhang mit klinischen Ereignissen nicht gesichert und sollte durch weitere Untersuchungen im Langzeitverlauf verifiziert werden.

4.5 Aussicht: Die Wahl des „richtigen“ Antikoagulanz

Wie schon eingangs erwähnt ist die Hemmung von Faktor IIa (Thrombin) längst nicht die einzige angewandte Therapie zur oralen Antikoagulation. Neben den Vitamin-K-Antagonisten sind die NOAC seit nun fast einem Jahrzehnt ein fester Bestandteil der klinischen Schlaganfallprävention. Neben den Ergebnissen der RE-LY-Studie[20] liegen mittlerweile auch weitere Daten aus großen Multicenter-Studien zum

Dabigatran vor. Auch die Faktor-Xa-Hemmer (Rivaroxaban, Apixaban, Edoxaban) sind in diesem Zusammenhang immer mehr in den Fokus gerückt. Die Guidelines der European Society of Cardiology (ESC) von 2016 empfehlen sogar die Nutzung von NOAC anstelle von VKA zur Schlaganfallprävention.[42] Die Frage nach der Wahl des „richtigen“ NOAC ist jedoch nach wie vor ungeklärt und soll im Folgenden diskutiert werden.

Die Ergebnisse der RE-LY-Studie zeigten eine Assoziation der Anwendung von Dabigatran mit einem erhöhten Vorkommen von MI im Vergleich zu VKA. In der Effektivität der Schlaganfallprävention stand Dabigatran dem VKA in nichts nach (Abbildung 12).

Table 2. Efficacy Outcomes, According to Treatment Group.

Event	Dabigatran, 110 mg (N=6015)		Dabigatran, 150 mg (N=6076)		Warfarin (N=6022)		Dabigatran, 110 mg, vs. Warfarin		Dabigatran, 150 mg, vs. Warfarin		Dabigatran, 150 mg vs. 110 mg	
							Relative Risk (95% CI)	P Value	Relative Risk (95% CI)	P Value	Relative Risk (95% CI)	P Value
	no. of patients	*%/yr*	*no. of patients*	*%/yr*	*no. of patients*	*%/yr*						
Stroke or systemic embolism*	182	1.53	134	1.11	199	1.69	0.91 (0.74–1.11)	<0.001 for noninferiority, 0.34	0.66 (0.53–0.82)	<0.001 for noninferiority, <0.001	0.73 (0.58–0.91)	0.005
Stroke	171	1.44	122	1.01	185	1.57	0.92 (0.74–1.13)	0.41	0.64 (0.51–0.81)	<0.001	0.70 (0.56–0.89)	0.003
Hemorrhagic	14	0.12	12	0.10	45	0.38	0.31 (0.17–0.56)	<0.001	0.26 (0.14–0.49)	<0.001	0.85 (0.39–1.83)	0.67
Ischemic or unspecified	159	1.34	111	0.92	142	1.20	1.11 (0.89–1.40)	0.35	0.76 (0.60–0.98)	0.03	0.69 (0.54–0.88)	0.002
Nondisabling stroke	60	0.50	44	0.37	69	0.58	0.86 (0.61–1.22)	0.40	0.62 (0.43–0.91)	0.01	0.72 (0.49–1.07)	0.10
Disabling or fatal stroke	112	0.94	80	0.66	118	1.00	0.94 (0.73–1.22)	0.65	0.66 (0.50–0.88)	0.005	0.70 (0.53–0.94)	0.02
Myocardial infarction	86	0.72	89	0.74	63	0.53	1.35 (0.98–1.87)	0.07	1.38 (1.00–1.91)	0.048	1.02 (0.76–1.38)	0.88
Pulmonary embolism	14	0.12	18	0.15	11	0.09	1.26 (0.57–2.78)	0.56	1.61 (0.76–3.42)	0.21	1.27 (0.63–2.56)	0.50
Hospitalization	2311	19.4	2430	20.2	2458	20.8	0.92 (0.87–0.97)	0.003	0.97 (0.92–1.03)	0.34	1.06 (1.00–1.12)	0.04
Death from vascular causes	289	2.43	274	2.28	317	2.69	0.90 (0.77–1.06)	0.21	0.85 (0.72–0.99)	0.04	0.94 (0.79–1.11)	0.44
Death from any cause	446	3.75	438	3.64	487	4.13	0.91 (0.80–1.03)	0.13	0.88 (0.77–1.00)	0.051	0.97 (0.85–1.11)	0.66

* Data are shown for all patients who had at least one event. All analyses were based on the time to the first event. P values are for superiority, unless otherwise indicated. The modified Rankin scale (on which scores can range from 0 [no neurologic disability] to 5 [severe disability], with 6 indicating a fatal stroke) was used to categorize stroke: nondisabling stroke was defined by a score of 0 to 2, and disabling or fatal stroke, a score of 3 to 6.

Abb. 12: Erhöhte MI-Rate unter Dabigatrantherapie in der RE-LY-Studie.[20]

Eine 2013 von Artang et al. durchgeführte Metaanalyse von insgesamt vier randomisierten Studien bestätigte diese Ergebnisse, indem sie eine um 41% erhöhte MI-Rate in einer Dabigatran-behandelten Kohorte im Vergleich mit einer VKA-therapierten Patientengruppe zeigte.[43]

Die vor kurzem erschienene RE-DUAL PCI Studie beschäftigte sich mit der Problematik des erhöhten Blutungsrisikos unter antithrombotischer Triple-Therapie, also der Kombination aus einem VKA mit ASS und einem P2Y12-Hemmer (z.B. Clopidogrel, Ticagrelor, Prasugrel, Cangrelor). Diese stellt nach PCI bei Patienten

mit bekanntem VHF und somit Indikation zur oralen Antikoagulation für mindestens einen Monat die Therapie der Wahl dar. Insbesondere im Hinblick auf das Blutungsrisiko verglich diese Studie die klassische Triple-Therapie mit einer dualen Therapie, bestehend aus 110 bzw. 150 mg Dabigatran und einem P2Y12-Hemmer ohne ASS. Wie erwartet kam es hier in der dual therapierten Gruppe zu signifikant weniger Blutungsereignissen. Allerdings zeigte sich auch hier eine erhöhte Rate an Myokardinfarkten für die Dabigatran-Gruppen. Diese war für keine der beiden Dosierungsformen (110 und 150 mg Dabigatran) signifikant, jedoch zeigte sich interessanter Weise ein eindeutiger Trend für die niedrige Dosis. Mit einem p-Wert von 0.09 zeigte sich zumindest ein Trend für ein erhöhtes Vorkommen von MI.[44]

Der Grund für diese eindeutigen Ergebnisse ist bisher unklar. Einen möglichen Erklärungsansatz liefert die oben aufgeführte klinische Studie. Chen et al. konnte darüber hinaus sogar zeigen, dass Dabigatran *in vitro* dosisabhängig eine Hemmung der Thrombin-induzierten Spaltung und somit der Aktivierung und Internalisierung des PAR-1-Rezeptors bedingt. Außerdem führte die verlängerte Exposition des PAR-1-Rezeptors gegenüber inaktiviertem Thrombin zu einer Steigerung der Oberflächenexpression des Rezeptors.[45]

Eine auf einem anderen Mechanismus beruhende Erklärung lieferten Petzold et al. 2016. Sie konnten zeigen, dass Dabigatran *in vitro* eine erhöhte Plättchenadhäsion und eine vermehrte Thrombusbildung im Flusskammermodell auf humanen, artherosklerotischen Plaques verursacht. Als molekulare Grundlage hierfür identifizierten diese Kollegen eine vermehrte Interaktion von GPIbα mit vWF.[46]

Zusammenfassend liefern all diese Studien also verschiedene Erklärungsansätze für die erhöhte Rate an Myokardinfarkten unter Dabigatrantherapie und sollten bei der Frage nach der Wahl eines oralen Antikoagulanz zur Schlaganfallsprophylaxe in Betracht gezogen werden.

Entgegen all dieser Ergebnisse lieferte eine aktuelle Metaanalyse von Wei et al., welche die Daten über 580.000 Patienten aus 24 Substudien miteinander verglich, interessante Erkenntnisse. Im Hinblick auf den Endpunkt MI wurden mehr als 220.000 Dabigatran-behandelte Patienten mit etwa 360.000 Patienten, die ein Placebo oder ein anderes Antikoagulanz erhielten, verglichen. Hier zeigte sich kein signifikant erhöhtes Risiko für das Auftreten eines Myokardinfarktes in der

Dabigatran-Gruppe.[47] Allerdings liegen die Limitationen von Beobachtungsstudien klar auf der Hand: Die Selektion der eingeschlossenen Patienten erfolgt uneinheitlich, Störgrößen werden häufig nicht erfasst, die INR-Werte der VKA-Patienten sind meist unbekannt. Außerdem können sozioökonomische Unterschiede und ein ungleicher Zugang zur Patientenversorgung in den studienteilnehmenden Ländern resultatverändernde Bias darstellen.

Der Grund für die offensichtlich heterogenen Ergebnisse zu diesem Thema ist nicht abschließend geklärt. Allerdings liegen hier sehr unterschiedliche Studiendesigns vor. Vor allem führen die oben genannten Gründe dazu, dass ein Vergleich zwischen kontrolliert randomisierten Studien und reinen Observationsstudien schwierig ist. Hier besteht weiterhin erheblicher Forschungsbedarf.

Eine Alternative zum Dabigatran und den VKA liefern die Faktor-Xa-Inhibitoren. Von ihnen haben in den letzten Jahren drei Vertreter den Einzug in den klinischen Alltag gehalten: das Rivaroxaban (Xarelto®), das Apixaban (Eliquis®) und als jüngstes von ihnen das Edoxaban (Lixiana®). Deren Zulassungsstudien brachten Erstaunliches zutage. Alle drei dienten dem Vergleich des jeweiligen NOAC mit VKA. Entscheidend war die Frage nach der Prävention von Schlaganfällen bei VHF. ROCKET-AF verglich unter kontrolliert randomisierten Bedingungen eine tägliche Dosis von 20 mg Rivaroxaban mit einer INR-gesteuerten VKA-Therapie in Patienten mit nicht-valvulärem VHF.[48] Unter ähnlichen Voraussetzungen erfolgte der Vergleich von VKA mit Apixaban in ARISTOTLE[49] und für Edoxaban in ENGANGE AF-TIMI 48.[50] Die Rate von MI zeigte sich für alle drei Vertreter im Vergleich mit VKA zumindest in der absoluten Anzahl reduziert.

Unterstützt werden diese Beobachtungen durch eine kürzlich erschienene Arbeit von Lee et al., welche anhand des 1-Jahres-Risikos für das Auftreten einer Hospitalisierung oder der Mortalität durch MI und ihrer initialen oralen Antikoagulation aufgrund von Vorhofflimmern eingeteilt wurden. Hier zeigten sich keine signifikanten Unterschiede im Vergleich der jeweiligen NOAC untereinander. Im Vergleich mit VKA wiesen jedoch alle untersuchten NOAC (Dabigatran, Apixaban und Rivaroxaban) ein signifikant geringeres Risiko für einen MI auf.[51] Für Rivaroxaban konnte eine Metaanalyse durch Chatterjee et al. sogar eine signifikante

Abnahme des MI- und kardiovaskulären Todes im Vergleich zu unterschiedlichen Kontrollgruppen rausstellen.[52]

Deutlich unterstrichen wurden diese Beobachtungen schließlich durch die 2016 veröffentlichte PIONEER AF-PCI Studie. Diese verglich die kombinierten Therapieregime aus 15 mg Rivaroxaban und einem P2Y12-Hemmer bzw. zweimal täglich 2,5 mg Rivaroxaban und DAPT mit der klassischen Tripletherapie (VKA und DAPT) nach PCI. Auch hier zeigte sich eine Reduktion der Rate an Myokardinfarkten und der Mortalität kardiovaskulärer Ursache, allerdings erneut nicht signifikant.[53] Vergleichbare Studien zu Apixaban und Edoxaban laufen aktuell und werden mit entsprechender Spannung erwartet.

Abgesehen von ihrer klinischen Überlegenheit in der Behandlung von VHF zeigten sich auch in der Behandlung von KHK-Patienten ohne VHF deutliche Vorteile der Faktor-X-Inhibitoren. ATLAS ACS 2-TIMI zeigte für die Kombination von Rivaroxaban mit DAPT eine signifikante Reduktion von ischämischen Ereignissen (MI, Schlaganfall, Tod kardiovaskulärer Ursache) im Vergleich zu einer Therapie mittels Placebo und DAPT nach vorangegangenem MI.[54] Auch in der Behandlung von Patienten mit stabiler KHK konnte sich Rivaroxaban bewähren. In der erst kürzlich erschienenen COMPASS-Studie konnte die Kombination einer niedrigen Dosis Rivaroxaban mit Aspirin das klinische Outcome der Patienten verbessern.[55] Diese deutlichen Vorteile der Rivaroxabantherapie sind jedoch nicht ohne Weiteres auf die anderen Faktor-Xa-Inhibitoren übertragbar. So konnte für eine Kombination aus Apixaban und DAPT keine Überlegenheit nach akutem Koronarsyndrom gegenüber der herkömmlichen DAPT gezeigt werden, da es zu vermehrten Blutungsereignissen kam (APPRAISE-2). Allerdings war in dieser Studie auch, anders als in COMPASS und ATLAS ACS 2-TIMI, keine Dosisreduktion des Antikoagulanz erfolgt. Apixaban war hier in der herkömmlichen Dosis von 5 mg zweimal täglich, sowie es auch zur Schlaganfallprävention bei VHF verwendet wird, zum Einsatz gekommen. Abgesehen davon, war die Rate an MI in der Apixaban-Gruppe zwar ebenfalls verringert, jedoch nicht signifikant.[56]

Grundlagenwissenschaftlich gibt es bereits unterschiedliche Erklärungsansätze für die beschriebenen klinischen Beobachtungen. So konnten Perzborn et al. z.B. eine verminderte TF-induzierte Plättchenaggregation durch die *in vitro*-Zugabe von

Rivaroxaban erzielen.[57] Nehaj et al. zeigten eine verminderte TRAP-induzierte Aggregation in Rivaroxaban- und Apixaban-behandelten Patienten nach initialer Medikamentengabe.[58] Dies konnten wir in eigenen, seperaten Untersuchungen zumindest für die Behandlung mit Rivaroxaban reproduzieren (nicht gezeigt). Eine Querschnittsstudie von Pignatelli et al. ergab eine signifikante Reduktion von TXB2-Sekretion und GPVI-Expression verglichen mit VKA.[59] Widersprüchlich hierzu konnten Banovcin et al. durch Rivaroxaban oder Apixaban keine Reduktion der ADP-, Epinephrin- oder Kollagen-induzierten Plättchenreaktivität zu erzielen.[60]

Um individuell die richtige Wahl des für den Patienten geeignetsten NOAC zu treffen ist die Datenlage bisher noch unvollständig. Auch existieren derzeit leider noch keine Kopf-an-Kopf-Vergleiche der einzelnen NOAC und sind in allzu naher Zukunft auch nicht zu erwarten. Die Untersuchung der NOAC auf die Mechanismen der Thrombozytenaggregation und dessen Auswirkungen auf klinische Endpunkte bieten also offensichtlich noch viel Potenzial. Die in dieser Arbeit aufgeführten Studienergebnisse sollten jedoch in die Entscheidungsfindung mit einbezogen werden und verschaffen hoffentlich einen guten Überblick über die in Betracht zu ziehenden Argumente bei der individualisierten Therapieplanung.

5. Literatur

1. Gawaz M. Role of platelets in coronary thrombosis and reperfusion of ischemic myocardium. *Cardiovasc Res*. 2004;61:498-511.
2. Bagot CN and Arya R. Virchow and his triad: a question of attribution. *Br J Haematol*. 2008;143:180-90.
3. Furie B and Furie BC. Mechanisms of thrombus formation. *N Engl J Med*. 2008;359:938-49.
4. Davi G and Patrono C. Platelet activation and atherothrombosis. *N Engl J Med*. 2007;357:2482-94.
5. Harrison P. Platelet function analysis. *Blood Rev*. 2005;19:111-23.
6. Gale AJ. Continuing education course #2: current understanding of hemostasis. *Toxicol Pathol*. 2011;39:273-80.
7. Muller F, Gailani D and Renne T. Factor XI and XII as antithrombotic targets. *Curr Opin Hematol*. 2011;18:349-55.
8. Valgimigli M, Bueno H, Byrne RA, Collet JP, Costa F, Jeppsson A, Juni P, Kastrati A, Kolh P, Mauri L, Montalescot G, Neumann FJ, Petricevic M, Roffi M, Steg PG, Windecker S, Zamorano JL, Levine GN, Group ESCSD, Guidelines ESCCfP and Societies ESCNC. 2017 ESC focused update on dual antiplatelet therapy in coronary artery disease developed in collaboration with EACTS: The Task Force for dual antiplatelet therapy in coronary artery disease of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *Eur Heart J*. 2018;39:213-260.
9. Pamukcu B. A review of aspirin resistance; definition, possible mechanisms, detection with platelet function tests, and its clinical outcomes. *J Thromb Thrombolysis*. 2007;23:213-22.
10. Polzin A, Afzal S, Balzer J, Rassaf T, Kelm M and Zeus T. Platelet reactivity in MitraClip patients. *Vascul Pharmacol*. 2016;77:54-9.
11. Polzin A, Schleicher M, Seidel H, Scharf RE, Merx MW, Kelm M and Zeus T. High on-treatment platelet reactivity in transcatheter aortic valve implantation patients. *Eur J Pharmacol*. 2015;751:24-7.

12. Polzin A, Dannenberg L, Sophia Popp V, Kelm M and Zeus T. Antiplatelet effects of clopidogrel and aspirin after interventional patent foramen ovale/ atrium septum defect closure. *Platelets*. 2016;27:317-21.
13. Krasopoulos G, Brister SJ, Beattie WS and Buchanan MR. Aspirin "resistance" and risk of cardiovascular morbidity: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2008;336:195-8.
14. Dannenberg L, Erschoff V, Bonner F, Gliem M, Jander S, Levkau B, Kelm M, Hohlfeld T, Zeus T and Polzin A. Dipyrone comedication in aspirin treated stroke patients impairs outcome. *Vascul Pharmacol*. 2016;87:66-69.
15. Polzin A, Richter S, Schror K, Rassaf T, Merx MW, Kelm M, Hohlfeld T and Zeus T. Prevention of dipyrone (metamizole) induced inhibition of aspirin antiplatelet effects. *Thromb Haemost*. 2015;114:87-95.
16. Polzin A, Dannenberg L, Sansone R, Levkau B, Kelm M, Hohlfeld T and Zeus T. Antiplatelet effects of aspirin in chronic kidney disease patients. *J Thromb Haemost*. 2016;14:375-80.
17. Polzin A, Zeus T, Schror K, Kelm M and Hohlfeld T. Dipyrone (metamizole) can nullify the antiplatelet effect of aspirin in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62:1725-6.
18. 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. *J Thromb Haemost*. 2008;6:166-73.
19. Hicks T, Stewart F and Eisinga A. NOACs versus warfarin for stroke prevention in patients with AF: a systematic review and meta-analysis. *Open Heart*. 2016;3:e000279.
20. Connolly SJ, Ezekowitz MD, Yusuf S, Eikelboom J, Oldgren J, Parekh A, Pogue J, Reilly PA, Themeles E, Varrone J, Wang S, Alings M, Xavier D, Zhu J, Diaz R, Lewis BS, Darius H, Diener HC, Joyner CD, Wallentin L, Committee R-LS and Investigators. Dabigatran versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med*. 2009;361:1139-51.
21. Nassini R, Fusi C, Materazzi S, Coppi E, Tuccinardi T, Marone IM, De Logu F, Preti D, Tonello R, Chiarugi A, Patacchini R, Geppetti P and Benemei S. The

TRPA1 channel mediates the analgesic action of dipyrone and pyrazolone derivatives. *Br J Pharmacol*. 2015;172:3397-411.

22. Pierre SC, Schmidt R, Brenneis C, Michaelis M, Geisslinger G and Scholich K. Inhibition of cyclooxygenases by dipyrone. *Br J Pharmacol*. 2007;151:494-503.

23. Huguley CM, Jr. Agranulocytosis Induced by Dipyrone, a Hazardous Antipyretic and Analgesic. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 1964;189:938-41.

24. McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD, Auricchio A, Bohm M, Dickstein K, Falk V, Filippatos G, Fonseca C, Gomez-Sanchez MA, Jaarsma T, Kober L, Lip GY, Maggioni AP, Parkhomenko A, Pieske BM, Popescu BA, Ronnevik PK, Rutten FH, Schwitter J, Seferovic P, Stepinska J, Trindade PT, Voors AA, Zannad F and Zeiher A. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *European heart journal*. 2012;33:1787-847.

25. Montalescot G, Sechtem U, Achenbach S, Andreotti F, Arden C, Budaj A, Bugiardini R, Crea F, Cuisset T, Di Mario C, Ferreira JR, Gersh BJ, Gitt AK, Hulot JS, Marx N, Opie LH, Pfisterer M, Prescott E, Ruschitzka F, Sabate M, Senior R, Taggart DP, van der Wall EE, Vrints CJ, Zamorano JL, Baumgartner H, Bax JJ, Bueno H, Dean V, Deaton C, Erol C, Fagard R, Ferrari R, Hasdai D, Hoes AW, Kirchhof P, Knuuti J, Kolh P, Lancellotti P, Linhart A, Nihoyannopoulos P, Piepoli MF, Ponikowski P, Sirnes PA, Tamargo JL, Tendera M, Torbicki A, Wijns W, Windecker S, Valgimigli M, Claeys MJ, Donner-Banzhoff N, Frank H, Funck-Brentano C, Gaemperli O, Gonzalez-Juanatey JR, Hamilos M, Husted S, James SK, Kervinen K, Kristensen SD, Maggioni AP, Pries AR, Romeo F, Ryden L, Simoons ML, Steg PG, Timmis A and Yildirir A. 2013 ESC guidelines on the management of stable coronary artery disease: the Task Force on the management of stable coronary artery disease of the European Society of Cardiology. *European heart journal*. 2013;34:2949-3003.

26. http://www.medizinfo.de/schmerz/thwho.htm. Letztes Zugriffsdatum: 18.11.2018

27. Polzin A, Richter S, Schror K, Rassaf T, Merx MW, Kelm M, Hohlfeld T and Zeus T. Prevention of dipyrone (metamizole) induced inhibition of aspirin antiplatelet effects. *Thromb Haemost*. 2015;113.

28. Achilles A, Mohring A, Dannenberg L, Piayda K, Levkau B, Hohlfeld T, Zeus T, Kelm M and Polzin A. Analgesic medication with dipyrone in patients with coronary artery disease: Relation to MACCE. *Int J Cardiol*. 2017;236:76-81.

29. Berger JS, Brown DL and Becker RC. Low-dose aspirin in patients with stable cardiovascular disease: a meta-analysis. *The American journal of medicine*. 2008;121:43-9.

30. Mayer K, Bernlochner I, Braun S, Schulz S, Orban M, Morath T, Cala L, Hoppmann P, Schunkert H, Laugwitz KL, Kastrati A and Sibbing D. Aspirin treatment and outcomes after percutaneous coronary intervention: results of the ISAR-ASPI registry. *Journal of the American College of Cardiology*. 2014;64:863-71.

31. Saxena A, Balaramnavar VM, Hohlfeld T and Saxena AK. Drug/drug interaction of common NSAIDs with antiplatelet effect of aspirin in human platelets. *European journal of pharmacology*. 2013;721:215-24.

32. Catella-Lawson F, Reilly MP, Kapoor SC, Cucchiara AJ, DeMarco S, Tournier B, Vyas SN and FitzGerald GA. Cyclooxygenase inhibitors and the antiplatelet effects of aspirin. *The New England journal of medicine*. 2001;345:1809-17.

33. Capone ML, Sciulli MG, Tacconelli S, Grana M, Ricciotti E, Renda G, Di Gregorio P, Merciaro G and Patrignani P. Pharmacodynamic interaction of naproxen with low-dose aspirin in healthy subjects. *Journal of the American College of Cardiology*. 2005;45:1295-301.

34. Schuijt MP, Huntjens-Fleuren HW, de Metz M and Vollaard EJ. The interaction of ibuprofen and diclofenac with aspirin in healthy volunteers. *British journal of pharmacology*. 2009;157:931-4.

35. Olsen AM, Fosbol EL, Lindhardsen J, Folke F, Charlot M, Selmer C, Bjerring Olesen J, Lamberts M, Ruwald MH, Kober L, Hansen PR, Torp-Pedersen C and Gislason GH. Long-term cardiovascular risk of nonsteroidal anti-inflammatory drug use according to time passed after first-time myocardial infarction: a nationwide cohort study. *Circulation*. 2012;126:1955-63.

36. Kurth T, Glynn RJ, Walker AM, Chan KA, Buring JE, Hennekens CH and Gaziano JM. Inhibition of clinical benefits of aspirin on first myocardial infarction by nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Circulation*. 2003;108:1191-5.

37. Schjerning Olsen AM, Fosbol EL, Lindhardsen J, Folke F, Charlot M, Selmer C, Lamberts M, Bjerring Olesen J, Kober L, Hansen PR, Torp-Pedersen C and Gislason GH. Duration of treatment with nonsteroidal anti-inflammatory drugs and impact on risk of death and recurrent myocardial infarction in patients with prior myocardial infarction: a nationwide cohort study. *Circulation*. 2011;123:2226-35.

38. Kotter T, da Costa BR, Fassler M, Blozik E, Linde K, Juni P, Reichenbach S and Scherer M. Metamizole-associated adverse events: a systematic review and meta-analysis. *PloS one*. 2015;10:e0122918.

39. Hoffmann F and Schmiemann G. Pain medication in German nursing homes: a whole lot of metamizole. *Pharmacoepidemiology and drug safety*. 2016.

40. Stone GW, Witzenbichler B, Weisz G, Rinaldi MJ, Neumann FJ, Metzger DC, Henry TD, Cox DA, Duffy PL, Mazzaferri E, Gurbel PA, Xu K, Parise H, Kirtane AJ, Brodie BR, Mehran R and Stuckey TD. Platelet reactivity and clinical outcomes after coronary artery implantation of drug-eluting stents (ADAPT-DES): a prospective multicentre registry study. *Lancet*. 2013;382:614-23.

41. Coughlin SR. Thrombin signalling and protease-activated receptors. *Nature*. 2000;407:258-64.

42. Kirchhof P, Benussi S, Kotecha D, Ahlsson A, Atar D, Casadei B, Castella M, Diener HC, Heidbuchel H, Hendriks J, Hindricks G, Manolis AS, Oldgren J, Popescu BA, Schotten U, Van Putte B, Vardas P, Agewall S, Camm J, Baron Esquivias G, Budts W, Carerj S, Casselman F, Coca A, De Caterina R, Deftereos S, Dobrev D, Ferro JM, Filippatos G, Fitzsimons D, Gorenek B, Guenoun M, Hohnloser SH, Kolh P, Lip GY, Manolis A, McMurray J, Ponikowski P, Rosenhek R, Ruschitzka F, Savelieva I, Sharma S, Suwalski P, Tamargo JL, Taylor CJ, Van Gelder IC, Voors AA, Windecker S, Zamorano JL and Zeppenfeld K. 2016 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation developed in collaboration with EACTS. *Europace*. 2016;18:1609-1678.

43. Artang R, Rome E, Nielsen JD and Vidaillet HJ. Meta-analysis of randomized controlled trials on risk of myocardial infarction from the use of oral direct thrombin inhibitors. *Am J Cardiol*. 2013;112:1973-9.
44. Cannon CP, Bhatt DL, Oldgren J, Lip GYH, Ellis SG, Kimura T, Maeng M, Merkely B, Zeymer U, Gropper S, Nordaby M, Kleine E, Harper R, Manassie J, Januzzi JL, Ten Berg JM, Steg PG, Hohnloser SH, Committee R-DPS and Investigators. Dual Antithrombotic Therapy with Dabigatran after PCI in Atrial Fibrillation. *N Engl J Med*. 2017;377:1513-1524.
45. Chen B, Soto AG, Coronel LJ, Goss A, van Ryn J and Trejo J. Characterization of thrombin-bound dabigatran effects on protease-activated receptor-1 expression and signaling in vitro. *Mol Pharmacol*. 2015;88:95-105.
46. Petzold T, Thienel M, Konrad I, Schubert I, Regenauer R, Hoppe B, Lorenz M, Eckart A, Chandraratne S, Lennerz C, Kolb C, Braun D, Jamasbi J, Brandl R, Braun S, Siess W, Schulz C and Massberg S. Oral thrombin inhibitor aggravates platelet adhesion and aggregation during arterial thrombosis. *Sci Transl Med*. 2016;8:367ra168.
47. Wei AH, Gu ZC, Zhang C, Ding YF, Liu D, Li J, Liu XY, Lin HW and Pu J. Increased risk of myocardial infarction with dabigatran etexilate: fact or fiction? A critical meta-analysis of over 580,000 patients from integrating randomized controlled trials and real-world studies. *Int J Cardiol*. 2018;267:1-7.
48. Patel MR, Mahaffey KW, Garg J, Pan G, Singer DE, Hacke W, Breithardt G, Halperin JL, Hankey GJ, Piccini JP, Becker RC, Nessel CC, Paolini JF, Berkowitz SD, Fox KA, Califf RM and Investigators RA. Rivaroxaban versus warfarin in nonvalvular atrial fibrillation. *N Engl J Med*. 2011;365:883-91.
49. Granger CB, Alexander JH, McMurray JJ, Lopes RD, Hylek EM, Hanna M, Al-Khalidi HR, Ansell J, Atar D, Avezum A, Bahit MC, Diaz R, Easton JD, Ezekowitz JA, Flaker G, Garcia D, Geraldes M, Gersh BJ, Golitsyn S, Goto S, Hermosillo AG, Hohnloser SH, Horowitz J, Mohan P, Jansky P, Lewis BS, Lopez-Sendon JL, Pais P, Parkhomenko A, Verheugt FW, Zhu J, Wallentin L, Committees A and Investigators. Apixaban versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med*. 2011;365:981-92.

50. Giugliano RP, Ruff CT, Braunwald E, Murphy SA, Wiviott SD, Halperin JL, Waldo AL, Ezekowitz MD, Weitz JI, Spinar J, Ruzyllo W, Ruda M, Koretsune Y, Betcher J, Shi M, Grip LT, Patel SP, Patel I, Hanyok JJ, Mercuri M, Antman EM and Investigators EA-T. Edoxaban versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med*. 2013;369:2093-104.

51. Lee CJ, Gerds TA, Carlson N, Bonde AN, Gislason GH, Lamberts M, Olesen JB, Pallisgaard JL, Hansen ML and Torp-Pedersen C. Risk of Myocardial Infarction in Anticoagulated Patients With Atrial Fibrillation. *J Am Coll Cardiol*. 2018;72:17-26.

52. Chatterjee S, Sharma A, Uchino K, Biondi-Zoccai G, Lichstein E and Mukherjee D. Rivaroxaban and risk of myocardial infarction: insights from a meta-analysis and trial sequential analysis of randomized clinical trials. *Coron Artery Dis*. 2013;24:628-35.

53. Gibson CM, Mehran R, Bode C, Halperin J, Verheugt FW, Wildgoose P, Birmingham M, Ianus J, Burton P, van Eickels M, Korjian S, Daaboul Y, Lip GY, Cohen M, Husted S, Peterson ED and Fox KA. Prevention of Bleeding in Patients with Atrial Fibrillation Undergoing PCI. *N Engl J Med*. 2016;375:2423-2434.

54. Mega JL, Braunwald E, Wiviott SD, Bassand JP, Bhatt DL, Bode C, Burton P, Cohen M, Cook-Bruns N, Fox KA, Goto S, Murphy SA, Plotnikov AN, Schneider D, Sun X, Verheugt FW, Gibson CM and Investigators AAT. Rivaroxaban in patients with a recent acute coronary syndrome. *N Engl J Med*. 2012;366:9-19.

55. Eikelboom JW, Connolly SJ, Bosch J, Dagenais GR, Hart RG, Shestakovska O, Diaz R, Alings M, Lonn EM, Anand SS, Widimsky P, Hori M, Avezum A, Piegas LS, Branch KRH, Probstfield J, Bhatt DL, Zhu J, Liang Y, Maggioni AP, Lopez-Jaramillo P, O'Donnell M, Kakkar A, Fox KAA, Parkhomenko AN, Ertl G, Stork S, Keltai M, Ryden L, Pogosova N, Dans AL, Lanas F, Commerford PJ, Torp-Pedersen C, Guzik TJ, Verhamme PB, Vinereanu D, Kim JH, Tonkin AM, Lewis BS, Felix C, Yusoff K, Steg PG, Metsarinne KP, Cook Bruns N, Misselwitz F, Chen E, Leong D, Yusuf S and Investigators C. Rivaroxaban with or without Aspirin in Stable Cardiovascular Disease. *N Engl J Med*. 2017.

56. Alexander JH, Lopes RD, James S, Kilaru R, He Y, Mohan P, Bhatt DL, Goodman S, Verheugt FW, Flather M, Huber K, Liaw D, Husted SE, Lopez-Sendon J, De Caterina R, Jansky P, Darius H, Vinereanu D, Cornel JH, Cools F, Atar D,

Leiva-Pons JL, Keltai M, Ogawa H, Pais P, Parkhomenko A, Ruzyllo W, Diaz R, White H, Ruda M, Geraldes M, Lawrence J, Harrington RA, Wallentin L and Investigators A-. Apixaban with antiplatelet therapy after acute coronary syndrome. *N Engl J Med*. 2011;365:699-708.

57. Perzborn E, Heitmeier S and Laux V. Effects of Rivaroxaban on Platelet Activation and Platelet-Coagulation Pathway Interaction: In Vitro and In Vivo Studies. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 2015;20:554-62.

58. Nehaj F, Sokol J, Ivankova J, Mokan M, Kovar F, Stasko J and Mokan M. First Evidence: TRAP-Induced Platelet Aggregation Is Reduced in Patients Receiving Xabans. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2017:1076029617734310.

59. Pignatelli P, Pastori D, Bartimoccia S, Menichelli D, Vicario T, Nocella C, Carnevale R and Violi F. Anti Xa oral anticoagulants inhibit in vivo platelet activation by modulating glycoprotein VI shedding. *Pharmacol Res*. 2016;113:484-489.

60. Banovcin P, Jr., Skornova I, Samos M, Schnierer M, Bolek T, Kovar F, Stasko J, Kubisz P and Mokan M. Platelet Aggregation in Direct Oral Factor Xa Inhibitors-treated Patients With Atrial Fibrillation: A Pilot Study. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2017;70:263-266.

6 Danksagung

Der Weg zur Fertigstellung dieser Arbeit war lang und führte nicht immer nur geradeaus. Ich schätze mich sehr glücklich in viereinhalb Jahren trotz vieler Herausforderungen nie von diesem Weg abgekommen zu sein und das habe ich allein den Menschen zu verdanken, die mich auf ihm begleitet haben – mit allen seinen Höhen und Tiefen.

Zunächst möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Thomas Hohlfeld bedanken. Als Doktorvater stand er mir allzeit mit Rat und Tat zur Seite und gab mir die Möglichkeit in behütetem Umfeld meine ersten Begegnungen mit der Wissenschaft zu machen. Er stellte mir nicht nur die Räumlichkeiten seines Labors zur Verfügung, sondern auch die Unterstützung seiner wertvollsten Mitarbeiterin. Liebe Kirsten, dieser Dank gilt auch dir. Ohne dich hätte ich vermutlich mindestens doppelt so lange für diese Promotion gebraucht. Deine stoische Geduld, deine Fürsorge und deine immer gefüllte Süßigkeitenkiste haben mich durch so viele endlos scheinende Nachmittage im Labor getragen. Vielen Dank.

Auch danke ich Herrn Prof. Dr. Malte Kelm für die Möglichkeit unter seinem Namen zu forschen und in seiner Klinik die Patienten für diese Arbeit zu rekrutieren.

Mein Dank gilt außerdem Herrn PD Dr. Tobias Zeus, einem großartigen klinischen Mentor und Lehrer, der sich ohne Ausnahme immer schützend vor sein Team stellt. Mit der Zeit wuchs unser überschaubares Grüppchen aus einzelnen Doktoranden zu einer motivierten und permanent an Zuwachs gewinnenden Arbeitsgruppe zusammen. Wir diskutierten, wir stritten, wir lachten und wir feierten. Und so wurden aus Kollegen Freunde.

David und Martin – ich danke euch von Herzen für all den Bauchmuskelkater, auch wenn es für euch nie eine große Herausforderung war, mich zum Lachen zu bringen. Ich hätte mir keine besseren Leidens-„Genössen“ an Pipette und Aggregometer wünschen können. Unsere Sommerfeste werden legendär bleiben.

Lisa – zwischen uns war es Liebe auf den ersten Blick. Dein Beitritt in unsere AG war das Beste, was dieser passieren konnte. Du bist Vorbild und Inspiration für mich, aber vor allem bist du eine Freundin, die mit Gold nicht aufzuwiegen ist. Danke für

deine positive Energie, für wunderbare Karaoke-Momente, fürs Tränentrocknen, fürs Mäusehüten und für deinen grenzenlosen Optimismus.

Amin – nun zu dir. Alles was diese AG hervorgebracht hat, steht unter deinem Namen. Alles was wir erreicht haben, haben wir dir zu verdanken. Für alle von uns bist du eine starke Führungsperson, dessen Entschlossenheit und Ehrgeiz uns alle extrem motivieren. Du bist für uns wissenschaftlicher und klinischer Mentor. Für mich aber bist du vor allem ein wunderbarer und unverzichtbarer Freund, der mich immer dazu angehalten hat, groß zu träumen. Ich danke dir, dass du meine Ziele immer unterstützt hast, auch wenn es dir manchmal schwerfiel sie zu akzeptieren. Ich danke dir für einfach alles.

Ein so intensives Vorhaben wie eine Promotion erfordert regelmäßige Erdung durch die Menschen, die einen am besten kennen. Sechs von ihnen teilen seit nun schon 7 Jahren jedes Leid, jeden Frust und jede meiner Freuden. Manon, Juli, Iris, Toni, Christina und Thete. Das Beste an diesem Studium wart ihr. Danke dafür, dass wir zusammengeblieben sind. Danke für eure Ehrlichkeit. Danke für eure Liebe.

Hanni und Karo – danke, dass ihr schon immer da wart und es immer sein werdet.

Andrea, Uwe, Lutz, Simone und Lilli – danke, dass ich immer nach Hause kommen konnte und einfach Line sein durfte. Eure Unterstützung bedeutet mir alles.

Papa und Jenny – danke, dass ihr so unglaublich stolz auf mich seid und bedingungslos an mich glaubt. Ich habe euch unendlich lieb.

Mama – wie du schon weißt, ist diese Arbeit dir gewidmet. Das liegt daran, dass wirklich niemand anderes mir so viele Stunden zugehört, so viele Tränen getrocknet, so viele Wutausbrüche erduldet hat wie du. Und das nun schon mein ganzes Leben lang. Und nicht ein einziges Mal hast du eine Pause eingefordert oder deine Bedürfnisse über meine gestellt. Du bist mein Fels in der Brandung. Danke, Mama.

Als wir uns begegneten, war das Studium fast vorbei, die Promotion fast abgeschlossen. Aber du bist auf den Zug mit aufgesprungen, du hast alle meine Vorhaben unterstützt und keine einzige meiner Entscheidungen infrage gestellt. Dein größtes Ziel war es, mich glücklich zu sehen. Henning. Ich bin überglücklich und ich danke dir, dass du an meiner Seite bist. Du bist die Liebe meines Lebens.