

Aus dem Institut für Pharmakologie und Klinische Pharmakologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Prof. Dr. Jens W. Fischer

**Beeinflusst Metamizol die Hemmung der
Thrombozytenaggregation durch niedrig dosierte
Acetylsalicylsäure?**

Beobachtungsstudie an Patienten unter Schmerztherapie

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Larissa Christina Roßmann, geb. Stickelbruck

2020

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

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. med. Thomas Holthfeld

Zweitgutachter: PD Dr. med. Amin Polzin

Widmung:

„Für meine kleine Familie - in Liebe und Dankbarkeit“

„Was man zu verstehen gelernt hat, fürchtet man nicht mehr.“

(Marie Curie 1867-1934)

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Schmitz A, **Rossmann L**, Kienbaum P, Pavlakovic G, Werdehausen R, Hohlfeld T. Dipyron (metamizole) markedly interferes with platelet inhibition by aspirin in patients with acute and chronic pain. A case-control study. *Eur J Anesthesiol.* 2017;34:288–96.

Zusammenfassung

Die Atherosklerose ist häufig in den Industrienationen und stellt in ihrer Manifestation als koronare Herzkrankheit (KHK) weiterhin die Haupttodesursache dar. Aufgrund steigender Lebenserwartung ist mit einem weiteren Anstieg der Erkrankungshäufigkeit zu rechnen. Dies gilt ebenso für die Prävalenz von therapiebedürftigen Schmerzen, die insbesondere als chronischer Schmerz im Alter zunehmen. Eine leitliniengerechte medikamentöse Therapie beider Erkrankungen birgt das Risiko von Arzneimittelinteraktionen. Eine fundamentale Säule in der Sekundärprophylaxe von KHK und ischämischem Schlaganfall stellt eine antithrombozytäre Therapie mit niedrigdosierter Acetylsalicylsäure (sog. *low-dose* ASS) dar. Jedoch ist das Ansprechen auf diese Therapie variabel. Eine fehlende Thrombozytenfunktionshemmung trotz ASS-Therapie wird als *ASS-Non-Response* oder *High on-aspirin (treatment) platelet reactivity* (HAPR) bezeichnet und ist klinisch häufig. Neben Komorbiditäten wie Diabetes mellitus, können auch Medikamente wie z.B. nichtsteroidale Antirheumatika (*non-steroidal anti-inflammatory drug* (NSAID)) mit *low-dose* ASS interferieren. Vorarbeiten haben Anhaltspunkte ergeben, dass dies auch für das sehr beliebte Analgetikum Metamizol zutrifft.

In dieser Arbeit wurde die Thrombozytenaktivität unter *low-dose* ASS unter Komedikation mit Metamizol in einem Kollektiv von Schmerzpatienten im Rahmen einer Beobachtungsstudie anhand von Thrombozytenaggregationsmessungen und Messung der Thromboxanproduktion mittels *Radioimmunoassay* (RIA) in Form des stabilen Metaboliten Thromboxan B₂ (TXB₂) gemessen und mit der Thrombozytenfunktion von Patienten ohne Schmerztherapie verglichen. Daten über die Häufigkeit dieser Arzneimittelinteraktion bei Schmerzpatienten, die Metamizol nach einem festen Schema einnehmen, fehlten bisher.

In der Gruppe unter Metamizoltherapie zeigten 21 von 27 Patienten eine *ASS-Non-Response*, die auch durch *in vitro* Zugabe von ASS zu Thrombozyten dieser Patienten nicht durchbrochen werden konnte. Im Vergleich dazu traf dies nur für einen von 10 Patienten ohne Metamizoltherapie zu. Metamizol beeinflusst die Thrombozytenaggregationshemmung durch *low-dose* ASS in erheblichem Maße, was mangels standardmäßig durchgeführter Thrombozytenfunktionstestung, ein unerkanntes Risiko für diese Patienten darstellen kann. Ob sich aus der *ASS-Non-Response* durch Metamizoltherapie auch klinische Konsequenzen für die Patienten ergeben und ob sich durch bestimmte Verhaltensweisen eine Arzneimittelinteraktion vermeiden lässt, müssen weitere Studien klären.

Abstract

Atherosclerosis is a common disease in industrialized countries and continues to be the main cause of death in its manifestation as coronary heart disease (CHD). Due to increasing life expectancy, a further increase in the incidence of diseases is to be expected. This also applies to the prevalence of painful conditions in need of therapy, which become more frequent in particular in the form of chronic pain in old age. Drug therapy in accordance with guidelines for both diseases often leads to multimедication with potential drug interactions.

Antiplatelet therapy with low-dose acetylsalicylic acid (so-called low-dose ASA) is a fundamental pillar in the secondary prophylaxis of CAD and ischemic stroke. However, the response to this therapy is variable. A lack of platelet function inhibition despite ASA therapy is known as ASA non-response or high on aspirin (treatment) platelet reactivity (HAPR) and is clinically common. In addition to comorbidities such as diabetes mellitus also drugs like non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) (e.g. ibuprofen, diclofenac) can interfere with platelet function inhibition through low-dose ASA. Preliminary work has indicated that this also applies to the very popular analgesic dipyrene.

In this observational study the platelet activity in a group of pain patients under therapy with low-dose ASA and comedication with the analgesic dipyrene was compared with the platelet function of patients without pain therapy, using platelet aggregation and thromboxane production by radioimmunoassay (RIA) in the form of the stable metabolite thromboxane B₂ (TXB₂). Data on the frequency of this drug interaction in a population of pain patients taking dipyrene on a fixed schedule have so far been lacking.

In the group under dipyrene therapy, 21 out of 27 patients showed an ASA non-response, which could not be overcome even by the subsequent *in vitro* addition of ASA to the platelets of these patients. In comparison, there was only one ASA-non-responder out of 10 patients in the group without dipyrene therapy. This shows impressively that the concomitant administration of dipyrene inhibits platelet aggregation by low-dose ASA to a considerable extent, which can be an undetected risk for these patients, because platelet function tests are not performed on a routine basis in everyday clinical practice. Prospective studies and large controlled randomized trials are urgently needed to see whether ASA non-response from metamizole therapy also has clinical consequences for patients and whether certain behaviors can prevent drug interaction.

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|---------------------------------------|--|
| [³H]TXB₂ | Mit Tritium radioaktiv-markiertes TXB ₂ |
| 5'AMP | Adenosin 5'-Monophosphat |
| 5'GMP | Guanosin 5'-Monophosphat |
| 5-HT | 5-Hydroxytryptamin, Serotonin |
| 5-HT_{2A} | Serotoninrezeptor 2A |
| 11-DH-TXB₂ | 11-Dehydro-Thromboxan B ₂ |
| μl | Mikroliter |
| μM | Mikromolar entspricht μmol/l |
| AA | 4-Aminoantipyrin |
| AAA | 4-Acetylaminoantipyrin |
| ACE-Hemmer | <i>Angiotensin-Converting-Enzyme</i> -Hemmer |
| ACB-OP | aortokoronare Bypass-Operation |
| ACD | <i>Acid-Citrat-Dextrose</i> |
| ACS | akutes Koronarsyndrom |
| ADP | Adenosindiphosphat |
| ARA | <i>arachidonic acid</i> , Arachidonsäure |
| ASCEND | <i>A Study of Cardiovascular Events iN Diabetes</i> |
| ASS | Acetylsalicylsäure |
| AT1-Antagonisten | Angiotensin-II-Rezeptor-Subtyp-1-Antagonisten |
| AUC | <i>Area under the curve</i> |
| BfArM | Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte |
| BMI | <i>Body-Mass-Index</i> , Körpermasseindex [kg/m ²] |
| Ca²⁺ | Calcium |
| cAMP | cyclisches Adenosinmonophosphat |
| CAPRIE-Studie | <i>Clopidogrel versus Aspirin in Patients at Risk of Ischemic Events</i> -Studie |
| CB1-Rezeptor | Cannabinoidrezeptor 1 |
| cGMP | cyclisches Guanosinmonophosphat |
| C_{max} | Spitzenplasmaspiegel |
| COX | Cyclooxygenase |
| CYP2C9 | Cytochrom P450 2C9 |
| CYP2C19 | Cytochrom P450 2C19 |
| d | Tag |
| DMSO | Dimethyl-Sulfoxid |

| | |
|-------------------------------------|--|
| EDTA | Ethylendiamintetraacetat, (C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₈) |
| EMA | <i>European Medicines Agency</i> , europäische Arzneimittel-Agentur |
| ESC | <i>European Society of Cardiology</i> , europäische Gesellschaft für Kardiologie |
| FAA | 4-Formylaminoantipyrin |
| FAAH | <i>Fatty acid amide hydrolase</i> |
| GABA | Gamma-Aminobuttersäure |
| GFR | Glomeruläre Filtrationsrate |
| γ-GT | Gamma-Glutamyltransferase |
| GP | Glykoprotein |
| GP Ib-IX-V | Glykoprotein Ib-IX-V/ von-Willebrand-Faktor-Rezeptor |
| GP Ia/IIa | Glykoprotein Ia/IIa, entspricht Integrin α2β1 |
| GP IIb/IIIa | Glykoprotein IIb/IIIa, entspricht Integrin α _{IIb} β ₃ |
| GP VI | Glykoprotein VI |
| HAPR | <i>High on-aspirin platelet reactivity</i> |
| HCPR | <i>High on-clopidogrel platelet reactivity</i> |
| HEPES | N-(2-Hydroxyethyl)Piperazin-N'-(2-ethansulfonsäure) |
| HCl | Salzsäure |
| HPLC | <i>High performance liquid chromatography</i> , Hochleistungsflüssigkeitschromatographie |
| HTPR | <i>High on-treatment platelet reactivity</i> |
| HWS | Halswirbelsäule |
| HWZ | Halbwertszeit |
| IC₅₀ | mittlere inhibitorische Konstante |
| IgG | Gamma-Immunglobulin |
| IP₃ | Inositol-1,4,5-trisphosphat |
| ISIS-2-Studie | <i>Second International Study of Infarct Survivor</i> -Studie |
| i.v. | intravenös |
| KG | Körpergewicht |
| KH₂PO₄ | Kaliumdihydrogenphosphat |
| KHK | koronare Herzkrankheit |
| Ki | Inhibitionskonstante |
| LLOQ | <i>lower limit of quantification</i> , untere Bestimmungsgrenze |
| LTA | Lichttransmissionaggregometrie |
| LWS | Lendenwirbelsäule |
| MAA | 4-Methylaminoantipyrin |
| MG | Molekulargewicht |

| | |
|--------------------------------------|---|
| MgCl₂ | Magnesiumchlorid |
| Mio. | Millionen |
| mM | millimolar, entspricht mmol/l |
| mRNA | <i>messenger ribonucleic acid</i> , Boten-Ribonukleinsäure |
| MRP4 | <i>Multidrug resistance protein 4</i> |
| n | Anzahl |
| NaCl | Natriumchlorid |
| NaHCO₃ | Natriumhydrogencarbonat |
| NaHPO₄ | Natriumhydrogenphosphat |
| Na₂HPO₄ | Dinatriumhydrogenphosphat |
| NaOH | Natriumhydroxid, alkoholische Natronlauge |
| NO | Stickstoffmonoxid |
| NSAID | <i>non-steroidal anti-inflammatory drug</i> , syn. nichtsteroidales Antirheumatikum (NSAR) |
| NSTE-ACS | <i>non-ST-elevation acute coronary syndrom</i> , akutes Koronarsyndrom ohne ST-Hebung |
| OTC | <i>Over-the-counter</i> , rezeptfrei erhältlich |
| P2Y₁₂ | Adenosinphosphatrezeptor P2Y ₁₂ |
| PAF | <i>platelet activating factor</i> |
| PAR1 | Protease-aktivierter-Rezeptor-1 |
| PAR4 | Protease-aktivierter-Rezeptor-4 |
| PAP | plättchenarmes Plasma |
| pAVK | periphere arterielle Verschlusskrankheit |
| PCI | <i>percutane coronary intervention</i> , perkutane koronare Intervention, Syn. PTCA (perkutane transluminale Koronarangioplastie) |
| PDE | Phosphodiesterase |
| PDE 3 | Phosphodiesterase 3 |
| PDGF | <i>platelet derived growth factor</i> |
| PGE₁ | Prostaglandin E ₁ |
| PGE₂ | Prostaglandin E ₂ |
| PGG₂ | Prostaglandin G ₂ |
| PGH₂ | Prostaglandin H ₂ |
| PGI₂ | Prostazyklin |
| pKS-Wert | Säurekonstante |
| PLA₂ | Phospholipase A ₂ |
| PRP | plättchenreiches Plasma |
| RIA | <i>Radioimmunoassay</i> |

| | |
|------------------------|---|
| RP-HPLC | <i>Reversed Phase-High Performance Liquid Chromatography</i> Umkehrphasen-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie |
| RPR | <i>Residual platelet reactivity</i> |
| SEM | <i>Standard error of the mean</i> , Standardfehler des Mittelwertes |
| STEMI | ST-Strecken-Elevationsmyokardinfarkt, transmuraler Myokardinfarkt |
| STIMS | <i>Swedish Ticlopidine Multicentre-Studie</i> |
| TEA | Thrombendarteriektomie |
| TIA | transitorisch ischämische Attacke |
| TM-Puffer | Thrombozytenmedium-Puffer |
| TP-Rezeptor | Thromboxan-Rezeptor |
| TRIS | Tris(hydroxymethyl)aminomethan |
| TRPA-Kanal | <i>transient receptor potential channel</i> |
| TXA₂ | Thromboxan A ₂ |
| TXB₂ | Thromboxan B ₂ |
| TX-Synthase | Thromboxansynthase |
| USPSTF | <i>United States Preventive Services Task Force</i> |
| vWF | von-Willebrand-Faktor |
| WHO | <i>World Health Organization</i> , Weltgesundheitsorganisation |
| ZNS | zentrales Nervensystem |

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | Einleitung..... | 1 |
| 1.1 | Thrombozytenfunktion in der Hämostase | 2 |
| 1.2 | Arachidonsäuremetabolismus und Thromboxansynthese in aktivierten Thrombozyten | 5 |
| 1.3 | Einsatz von ASS als antithrombozytäre Therapie..... | 6 |
| 1.4 | Pharmakokinetik von ASS..... | 11 |
| 1.5 | Der klinische Einsatz von Metamizol und seine Bedeutung in der Schmerztherapie | 12 |
| 1.6 | Potentielle Wirkweise von Metamizol..... | 14 |
| 1.7 | Pharmakokinetik von Metamizol | 16 |
| 1.8 | Polypharmazie und Arzneimittelinteraktionen als Risikofaktoren für insuffiziente Pharmakotherapie..... | 17 |
| 1.9 | Terminologie, Diagnostik und klinische Relevanz einer verminderten ASS-Wirkung: ASS Resistenz, ASS-Non-Response bzw. <i>High on-aspirin (treatment) platelet reactivity</i> (HAPR)..... | 19 |
| 1.10 | Zielsetzung und Fragestellung | 21 |
| 2 | Material und Methodik | 22 |
| 2.1 | Studienplanung | 22 |
| 2.1.1 | Vorversuche..... | 22 |
| 2.1.2 | Patientenstudie | 24 |
| 2.2 | Patienten und Probanden | 25 |
| 2.2.1 | Ein- und Ausschlusskriterien | 25 |
| 2.2.2 | Patientendaten..... | 26 |
| 2.3 | Methoden | 27 |
| 2.3.1 | Blutentnahme..... | 27 |
| 2.3.2 | Plasmapräparation..... | 28 |
| 2.3.3 | Prinzip der turbidimetrischen Lichttransmissionsaggregometrie (LTA) nach Born | 29 |
| 2.3.4 | Prinzip der Aggregationsmessungen in Vollblut mittels Impedanzaggregometrie nach Cardinal und Flower..... | 29 |
| 2.3.5 | Durchführung der Aggregationsmessungen | 30 |
| 2.3.6 | Auswertung der Aggregationskurven..... | 30 |
| 2.3.7 | Bestimmung der Thromboxansynthese mittels <i>Radioimmunoassay</i> (RIA)..... | 32 |
| 2.3.8 | Plasmaspiegelbestimmung der Metamizolmetaboliten mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (<i>High Performance Liquid Chromatography</i> (HPLC))..... | 33 |
| 2.4 | Reagenzien | 34 |
| 2.5 | Statistik..... | 37 |
| 3 | Ergebnisse..... | 38 |
| 3.1 | Vorversuche mit Thrombozyten gesunder Probanden..... | 38 |
| 3.1.1 | Arachidonsäure-induzierte Thrombozytenaggregation..... | 38 |

| | | |
|---------|---|-----|
| 3.1.1.1 | Einfluss von ASS auf die Thrombozytenaggregation und Thromboxansynthese | 39 |
| 3.1.1.2 | Einfluss von 4-Methylaminoantipyrin (MAA) auf die Thrombozytenaggregation und Thromboxansynthese | 40 |
| 3.1.1.3 | Interaktion von 4-Methylaminoantipyrin (MAA) mit ASS in Bezug auf Thrombozytenaggregation und Thromboxansynthese | 41 |
| 3.1.2 | Kollageninduzierte Thrombozytenaggregation | 43 |
| 3.1.3 | Zeitkinetische Untersuchungen zur Interaktion von 4-Methylaminoantipyrin (MAA) mit ASS | 45 |
| 3.1.3.1 | Zeitkinetische Untersuchungen im plättchenreichen Plasma (PRP) | 45 |
| 3.1.3.2 | Zeitkinetische Untersuchungen im Vollblut..... | 47 |
| 3.1.4 | Zusammenfassung der Pilotstudien | 49 |
| 3.2 | Klinische Studie..... | 50 |
| 3.2.1 | Patientencharakteristika | 51 |
| 3.2.2 | Medikation | 53 |
| 3.2.2.1 | Indikation für <i>low-dose</i> ASS-Therapie | 53 |
| 3.2.2.2 | Indikation und Dosierung der Metamizoltherapie | 53 |
| 3.2.2.3 | Begleitmedikation | 54 |
| 3.2.3 | Begleiterkrankungen..... | 56 |
| 3.2.4 | Ergebnisse zur Thrombozytenfunktion der Patienten | 59 |
| 3.2.4.1 | Interaktion von Metamizol und ASS im plättchenreichen Plasma (PRP) | 59 |
| 3.2.4.2 | Interaktion von Metamizol und ASS – thrombozytäre Thromboxansynthese | 62 |
| 3.2.4.3 | Plasmaspiegel der Metamizolmetabolite | 64 |
| 4 | Diskussion | 66 |
| 4.1 | Studienergebnisse zur ASS- <i>Non-Response</i> unter Komedikation mit Metamizol | 67 |
| 4.2 | Interaktion von Metamizol und ASS an der Cyclooxygenase-1 (COX-1) und ihr Mechanismus | 69 |
| 4.3 | Interaktion von nichtsteroidalen Antirheumatika (NSAID) mit ASS an der Cyclooxygenase-1 (COX-1) | 73 |
| 4.4 | Einfluss einer Konzentrationserhöhung von ASS auf die Interaktion von Metamizol und ASS | 74 |
| 4.5 | Ursachen variierender und erhöhter Thromboxansynthese | 75 |
| 4.6 | Einfluss von Metamizol auf die Thromboxansynthese | 76 |
| 4.7 | Plasmaspiegel der Metamizolmetaboliten..... | 78 |
| 4.8 | Weitere Ursachen für ASS- <i>Non-Response</i> und ihre Bedeutung für die Studienergebnisse | 79 |
| 4.9 | Mögliche klinische Bedeutung der Metamizol-ASS-Interaktion..... | 83 |
| 4.10 | Kritische Betrachtung der angewendeten Methodik..... | 84 |
| 4.11 | Ausblick und Therapiealternativen | 86 |
| 5 | Literaturverzeichnis | 92 |
| 6 | Anhang | 114 |
| 7 | Danksagung | 116 |

1 Einleitung

Durch Präventionsmaßnahmen, eine bewusster Lebensführung und immer bessere medizinische Versorgung ist in den letzten Jahrzehnten die Sterblichkeit an koronarer Herzkrankheit (KHK) und Schlaganfällen um fast ein Drittel gesunken (1–3). Dennoch führen die Folgen von Herz-Kreislauf-erkrankungen, allen voran die Folgen der KHK, nach wie vor die nationale und internationale Todesursachenstatistik an (4,5).

Da die deutsche Bevölkerung dem demographischen Wandel unterliegt und das Lebensalter als einer der führenden traditionellen Risikofaktoren für die Entstehung einer Atherosklerose gilt (6), ist es naheliegend, dass immer mehr Individuen von Atherosklerose und ihren Folgeerkrankungen (KHK, ischämischer Schlaganfall, periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK)) betroffen sein werden und die Reduktion der Morbidität und Mortalität durch effektive Primär- und Sekundärprävention somit nicht nur im Patienteninteresse liegt, sondern auch von großer sozioökonomischer Bedeutung ist.

Neben einer Umstellung der Lebensgewohnheiten, Behandlung von Begleiterkrankungen und interventionellen (perkutane transluminale koronare Angioplastie (PTCA oder perkutane koronare Intervention (PCI)) mit und ohne Stenteinlage) oder operativen Revaskularisationsmaßnahmen (aortokoronare Bypass-Operation (ACB-OP), Karotis-Thrombendarterektomie (Karotis-TEA)) bildet die Pharmakotherapie, insbesondere der Einsatz niedrig dosierter Acetylsalicylsäure (*low-dose* ASS) zur Thrombozytenfunktionshemmung, eine wichtige Grundlage in der Akuttherapie und Sekundärprophylaxe kardio- und zerebrovaskulärer Ischämien (7,8).

Diverse Studien haben jedoch gezeigt, dass die antithrombozytäre Wirkung von *low-dose* ASS bei verschiedenen Patientenkollektiven unterschiedlich stark ausgeprägt bis sogar gänzlich aufgehoben ist und diese sogenannten *ASS-Non-Responder* nicht mehr effektiv vor Gefäßokklusionen geschützt sind (9–14).

Verschiedene Ursachen werden für das Therapieversagen von *low-dose* ASS diskutiert, unter denen Arzneimittelinteraktionen einen wichtigen Stellenwert einnehmen.

So zeigten mehrere etablierte Studien, dass nichtsteroidale Antiphlogistika (15–23) und auch Cyclooxygenase (COX)-2 Inhibitoren (Celecoxib) (24) die irreversible

Hemmung der Thrombozytenfunktion durch ASS beeinträchtigen oder sogar gänzlich aufheben können.

Auch für Metamizol und andere Pyrazolone (z.B. Propyphenazon) wurde dies initial in einer *in vitro* Studie an Blutproben gesunder Probanden gezeigt (25), mechanistisch aufgearbeitet (24) und nun in mehreren klinischen Beobachtungsstudien verschiedener Patientengruppen bestätigt (26–30).

Die vorliegende Arbeit untersuchte die klinische Prävalenz von *ASS-Non-Response* bei 27 Schmerzpatienten unter Metamizol- und gleichzeitiger *low-dose* ASS-Therapie verglichen mit einer Kohorte von 10 Patienten unter alleiniger *low-dose* ASS-Therapie, da für Schmerzpatienten, die Metamizol nach einem festen Schema und hoch dosiert einnehmen, bisher noch keine Daten vorliegen.

1.1 Thrombozytenfunktion in der Hämostase

Die Hämostase ist ein lebensnotwendiger Vorgang, der bei gestörter Gefäßwandintegrität, beispielsweise durch physikalische Verletzungen oder Ruptur atheromatöser Plaques, in Gang gesetzt wird. Ziel ist die rasche Bedeckung des Gefäßwandschadens durch einen Thrombus, um einen größeren Blutverlust zu vermeiden. In atherosklerotisch veränderten Gefäßen jedoch, kann die Hämostase zu Gefäßokklusionen und Ischämien führen.

Anhand des zeitlichen Ablaufs werden zwei Phasen unterschieden, die jedoch eng miteinander vernetzt sind: die primäre thrombozytäre Hämostase und die sekundäre plasmatische Hämostase.

Die primäre Hämostase beinhaltet die vier Phasen Vasokonstriktion, Thrombozytenadhäsion, Thrombozytenaggregation und Bildung eines noch instabilen plättchenreichen Thrombus (weißer Thrombus).

Initial steht die Gefäßverletzung, welche unmittelbar eine Kontraktion der glatten Muskulatur auslöst. Als wichtige Mediatoren fungieren hier endothelial freigesetztes Endothelin-1, Angiotensin II und Thromboxan A₂ (TXA₂), sowie vasokonstriktorische Prostaglandine. Zugleich aktiviert die durch die Gefäßläsion freigelegte subendotheliale Kollagenmatrix zirkulierende Thrombozyten, die diverse Mediatoren wie u.a. Serotonin (5-Hydroxytryptamin, 5-HT), *Platelet derived growth factor* (PDGF) und TXA₂ freisetzen.

In der nachfolgenden Phase heften sich die Thrombozyten mit ihrem spezifischen Rezeptor, dem Glykoprotein (GP) Ib-IX-V (auch von-Willebrand-Faktor-Rezeptor genannt), an auf freigelegten Kollagenfasern gebundenen von-Willebrand-Faktor (vWF). Die Thrombozyten-Kollagen-Interaktion kann auch unabhängig von vWF über GP Ia/IIa (entspricht Integrin $\alpha_2\beta_1$) oder GP VI erfolgen.

Im Rahmen der Zell-Matrix-Interaktion (sog. Thrombozytenadhäsion) werden die Thrombozyten aktiviert und morphologisch verändert („*shape change*“). Die Gestaltänderung (*shape change*) wird ausgelöst durch einen Anstieg der zytoplasmatischen Calcium (Ca^{2+})-Konzentration mit konsekutiver Aktivierung der intrazellulären Signalkaskade und führt durch Kontraktion des thrombozytären Zytoskeletts zur Ausbildung von Pseudopodien. Die biologische Bedeutung liegt in der Vergrößerung der Thrombozytenoberfläche zur effektiveren Abdichtung des Gefäßwandschadens. Die Thrombozytenaktivierung resultiert weiterhin in der Freilegung und Konformationsänderung von GP IIb/IIIa (entspricht Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$), welches für die Vernetzung von Thrombozyten essentiell ist. Fibrinogenbrücken werden zwischen GP IIb/IIIa der Thrombozyten ausgebildet, der sogenannten Thrombozytenaggregation. Parallel dazu werden weitere lösliche Mediatoren aus den Thrombozyten-Granula freigesetzt. Mediatoren wie insbesondere TXA_2 , *platelet activating factor* (PAF), 5-HT, vWF, Fibrinogen und Fibronectin bewirken eine Anlockung weiterer Thrombozyten und fördern den Aufbau eines dreidimensionalen Thrombozyten-Netzwerks zur Abdichtung des verletzten Gefäßes (weißer Thrombus) (s. Abb. 1).

Im Rahmen der sekundären Hämostase findet die eigentliche Blutgerinnung mit Aktivierung der Gerinnungskaskade statt, deren Resultat die Stabilisierung des Thrombus durch Ausbildung eines festen Fasernetzes aus Fibrin, Thrombozyten und Erythrozyten ist (roter Thrombus, syn. Gerinnungsthrombus). Hofmann und Monroe haben hier den Begriff „zellbasierte Hämostase“ eingeführt und ein entsprechendes Modell etabliert (31).

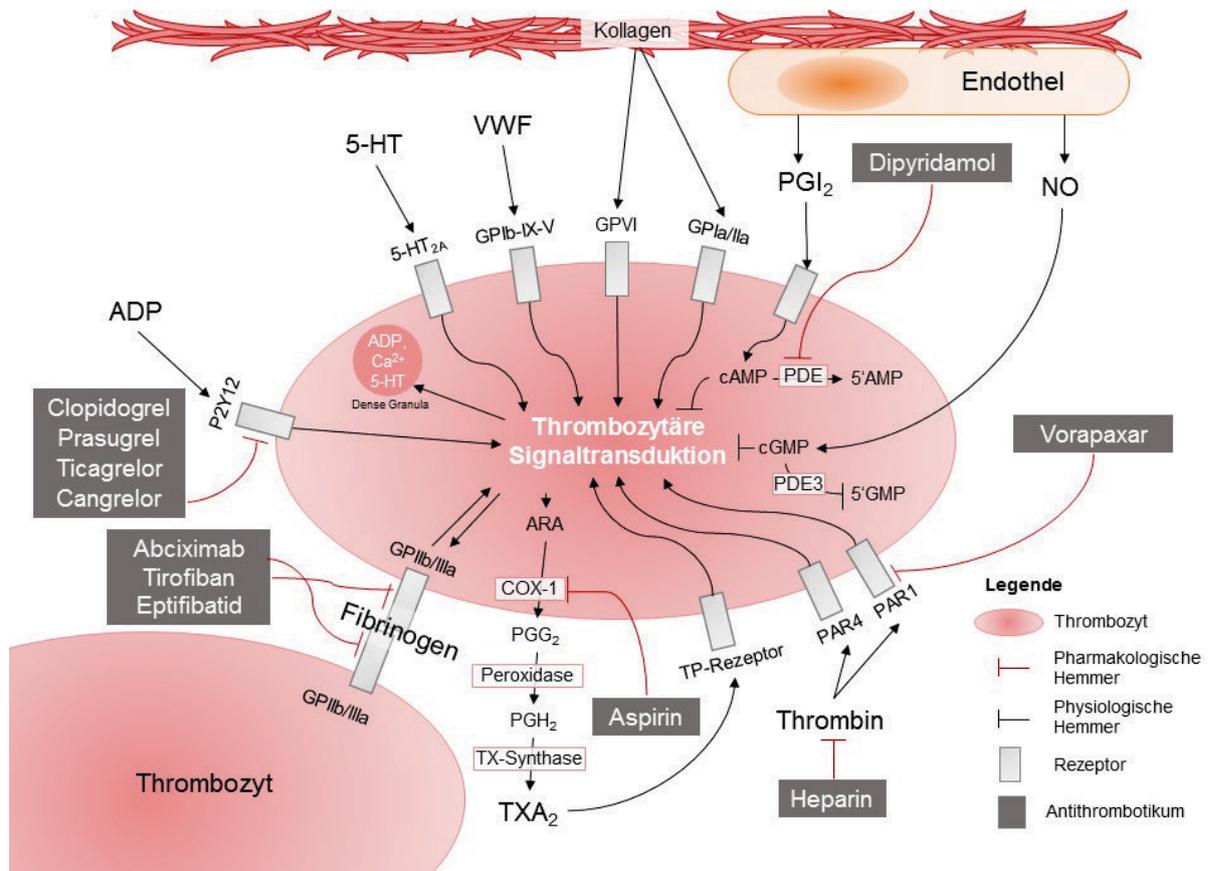


Abb. 1: Stark vereinfachtes Modell der Thrombozytenaktivierung und Aggregation und ihrer physiologischen und pharmakologischen Modulation.

Grafik angelehnt an (32). Clopidogrel: Thrombozytenaggregationshemmer aus der Gruppe der Thienopyridine, welcher über Hemmung des ADP-Rezeptors P2Y12 wirkt. Prasugrel: Thrombozytenaggregationshemmer aus der Gruppe der Thienopyridine, welcher wie Clopidogrel über Hemmung des ADP-Rezeptors P2Y12 wirkt. Ticagrelor: Thrombozytenaggregationshemmer aus der Klasse der Triazolopyrimidine, der reversibel den ADP-Rezeptor P2Y12 inhibiert. Cangrelor: Thrombozytenaggregationshemmer aus der Gruppe der P2Y12-Antagonisten, welcher reversibel bindet und kein Prodrug ist. Abciximab: Monoklonales Antikörperfragment, das GP IIb/IIIa-Rezeptoren inhibiert. Tirofiban: Antagonist am GP IIb/IIIa-Rezeptor. Eptifibatid: Inhibitor des GP IIb/IIIa-Rezeptors. Dipyridamol: Thrombozytenaggregationshemmer mit nicht vollständig geklärtem Wirkmechanismus. Wirkung beruht a.e. auf Wiederaufnahmehemmung von ADP, Phosphodiesterasehemmung und Hemmung der Thromboxansynthese. Vorapaxar: Thrombin-Rezeptor-Antagonist am Rezeptor PAR-1. Abkürzungen: 5'AMP = Adenosin 5'-Monophosphat, 5-HT = Serotonin, 5-HT_{2A} = Serotoninrezeptor 2A, 5'GMP = Guanosin 5'-Monophosphat, ADP = Adenosindiphosphat, ARA = *arachidonic acid* (Arachidonsäure), cAMP = cyclisches Adenosinmonophosphat, cGMP = cyclisches Guanosinmonophosphat, COX-1 = Cyclooxygenase-1, GPIa/IIa = Glykoprotein Ia/IIa, GPIb-IX-V = Glykoprotein Ib-IX-V, GPIIb/IIIa = Glykoprotein IIb/IIIa, GPVI = Glykoprotein VI, NO = Stickstoffmonoxid, P2Y12 = Adenosindiphosphatrezeptor P2Y12, PAR1/PAR4 = Protease-aktivierter-Rezeptor 1/Protease-aktivierter-Rezeptor 4, PDE = Phosphodiesterase, PDE3 = Phosphodiesterase 3, PGG₂ = Prostaglandin G₂, PGH₂ = Prostaglandin H₂, TP-Rezeptor = Thromboxan-Prostanoid-Rezeptor, TXA₂ = Thromboxan A₂, TX-Synthase = Thromboxansynthase, vWF = von-Willebrand-Faktor

1.2 Arachidonsäuremetabolismus und Thromboxansynthese in aktivierten Thrombozyten

In adhärenenten Thrombozyten wird nach ihrer Aktivierung mit Hilfe der (aktivierten) Phospholipase A₂ (PLA₂) aus Membranphospholipiden Arachidonsäure (*arachidonic acid*, ARA) herausgespalten. ARA wird dann mittels COX-1 weiter zu Prostaglandin G₂ (PGG₂) metabolisiert und dieses anschließend unter katalytischer Mitwirkung einer Peroxidase zu Prostaglandin H₂ (PGH₂) reduziert.

PGH₂ dient als Ausgangsstoff für verschiedene weitere Eicosanoide. Im Gefäßendothel wird daraus vorrangig das antithrombogene und vasodilatierende Prostazyklin (PGI₂) gebildet. In Thrombozyten wiederum wird PGH₂ hauptsächlich über die Thromboxansynthase (TX-Synthase) in TXA₂ überführt.

Cyclooxygenasen (COX) sind die geschwindigkeitsbestimmenden Enzyme bei der Prostaglandinsynthese. Zwei Isoformen dieses Enzyms sind bekannt, von denen COX-1 konstitutiv exprimiert wird und COX-2 auch zusätzlich im Rahmen eines Entzündungsgeschehens induziert werden kann (33). COX-2 spielt jedoch für die thrombozytäre Thromboxansynthese eine untergeordnete Rolle, da sie von Thrombozyten nicht regulär exprimiert wird (34). Allerdings kann Thromboxan auch thrombozytenunabhängig durch Induktion von COX-2 in Makrophagen, die in besonders hoher Anzahl in artherosklerotischen Plaques zu finden sind, gebildet werden (35).

Die Halbwertszeit (HWZ) von Prostaglandinen ist mit wenigen Minuten sehr kurz, so dass sie auf einen bestimmten Stimulus hin stets durch den oben genannten Mechanismus neu synthetisiert werden müssen (36). TXA₂ wird sehr schnell zum stabileren Thromboxan B₂ (TXB₂) hydrolysiert und kann dann in dieser Form im Plasma gemessen werden (37).

TXA₂ spielt für den Ablauf der Hämostase und Thrombusformation eine bedeutende Rolle, da es einen potenten Induktor der Aggregation darstellt und die Plättchenaktivierung und Aggregation noch zusätzlich über einen positiven Feedbackmechanismus via Bindung an den spezifischen TXA₂-Rezeptor auf der Plättchenmembran steigert. Es fördert auch die Freisetzung prokoagulatorischer Substanzen wie Ca²⁺, 5-HT und weiterer Gerinnungsfaktoren aus den Thrombozyten (sog. Degranulation). Aufgrund des autokrinen „Verstärker-Effektes“ von TXA₂ bei der Thrombozytenaktivierung steigt ab einem individuellen Schwellenwert durch die Rekrutierung immer mehr zirkulierender Thrombozyten die Thromboxankonzentration

exponentiell an und induziert schließlich die Thrombozytenaggregation (38). Daher muss TXA₂ für eine Aggregationshemmung und einen Schutz vor Gefäßokklusionen nahezu vollständig supprimiert sein (39).

An den Gefäßen bewirkt TXA₂ eine Vasokonstriktion, die über eine Verlangsamung des Blutflusses zusätzlich die Blutgerinnung verstärkt (38).

Der Thromboxan-Weg stellt eine der *Feedback*-Schleifen bei der Thrombozytenaktivierung dar (Abb. 1). TXA₂ wirkt über den Thromboxan-Rezeptor (TP-Rezeptor), welchen neben Thrombozyten auch Entzündungszellen (z.B. Makrophagen), Endothelzellen und Gefäßmuskelzellen exprimieren, weswegen TXA₂ über die Aktivierung von Entzündungszellen vermutlich auch an der Progression atherosklerotischer Läsionen beteiligt ist (40).

1.3 Einsatz von ASS als antithrombozytäre Therapie

Im Jahr 1887 wurde chemisch stabiles ASS erstmals vom deutschen Chemiker Felix Hoffmann unter Anleitung des jüdischen Chemikers Dr. Arthur Eichengrün für die Firma Bayer als Analgetikum und Antipyretikum hergestellt (41). Ein erhöhtes Blutungsrisiko wurde 1945 vom Hals-Nasen-Ohren-Arzt Singer zunächst als unerwünschte Nebenwirkung bemerkt (42) und durch die Forschungsgruppe des Nobelpreisträgers Sir John Vane im Jahr 1971 durch eine Hemmung der Prostaglandinsynthese begründet (43).

Bei einer stabilen KHK gilt *low-dose* ASS als das präventive Mittel der Wahl, mit dem Ziel, die Thrombozytenaggregation in den Herzkranzgefäßen und eine Vasokonstriktion zu verhindern und die Gefahr einer Myokardischämie zu verringern. ASS wird entsprechend auch in der aktuellen nationalen S3-Versorgungsleitlinie von 2019 mit dem höchsten Evidenzgrad IA für die Prävention kardiovaskulärer Ereignisse empfohlen (7,44).

ASS hemmt die Thrombozytenfunktion zunächst reversibel und mit schwacher Enzymaffinität (45) durch Konkurrenz mit ARA im aktiven Zentrum der COX-1, dann irreversibel durch kovalente Acetylierung der Aminosäure Serin530 des Enzyms (46) (s. Abb. 2). Die durch die Acetylierung bedingte sterische Änderung in unmittelbarer Nähe des katalytischen Zentrums des Enzyms führt dazu, dass das Substrat ARA nicht mehr im aktiven Zentrum binden kann und demnach nicht mehr weiter zu TXA₂

metabolisiert wird. Die verringerte Synthese von TXA_2 ist direkt mit einer verringerten Gefahr von arteriellen Thrombosen assoziiert (47).

Da die Hemmung durch ASS bereits früh im ARA-Stoffwechsel geschieht, nämlich auf Ebene des gemeinsamen Vorläufermetaboliten PGG_2 , wird neben TXA_2 auch die Synthese von antithrombogenem und gastroprotektiven PGI_2 in Endothelzellen supprimiert. Diese Effekte von ASS sind dosisabhängig.

Eine COX-1-Hemmung von $\geq 95\%$ ist erforderlich um eine effektive Thrombozytenfunktionshemmung zu gewährleisten (48), da TXA_2 einen äußerst potenten Stimulus für die Thrombozytenaktivierung darstellt (16). Dies wird in einer Dosis von 100 mg/Tag (d) erreicht und daher gemäß aktueller Versorgungsleitlinien evidenzbasiert empfohlen (44). Für die Sekundärprophylaxe des ischämischen Schlaganfalles wird, falls keine Indikation zur oralen Antikoagulation vorliegt, *low-dose* ASS in der Dosis 100 mg/d (Evidenzgrad IA) empfohlen, alternativ Clopidogrel (75 mg) (49) (s. Tabelle 1).

Eine antiphlogistische, analgetische und antipyretische Wirkung von ASS wird erst bei höheren Dosen von 500 - 1500 mg erzielt und geht mit einem höheren Nebenwirkungsprofil, u.a. durch die dosisabhängige Suppression von PGI_2 , einher (50).

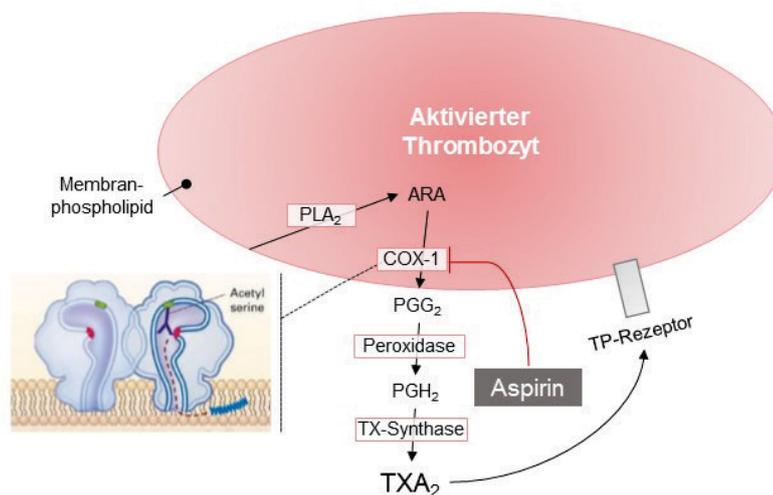


Abb. 2: Wirkung von ASS auf die Cyclooxygenase-1 (COX-1).

Detailansicht aus Abb. 1. Grafik im Kästchen links unten zitiert aus (16). Abkürzungen: ARA = *arachidonic acid* (Arachidonsäure), COX-1 = Cyclooxygenase-1, PGG_2 = Prostaglandin G_2 , PGH_2 = Prostaglandin H_2 , PLA_2 = Phospholipase A_2 , TXA_2 = Thromboxan A_2 , TX-Synthase = Thromboxansynthase, TP-Rezeptor = Thromboxan-Prostanoid-Rezeptor. Die Peroxidase stellt kein eigenständiges Enzym dar, sondern ist eine Funktion der COX-1. Bindung des Acetylrestes von ASS im Substratkanal eines Monomers der COX-1 (dunkelblau). Hierdurch wird die Bindung von ARA (navyblau, rechts unten im Bild) (als rot gestrichelte Linie dargestellt) unterbunden.

Die orale Einnahme von niedrig dosierter ASS (z.B. 100 mg/d) als Thrombozytenaggregationshemmer bei Patienten mit erhöhtem Risiko für Gefäßverschlüsse ist etabliert, kosteneffizient und senkt nachgewiesen die Mortalität (51). ASS kommt sowohl im Rahmen einer Akutbehandlung, als auch als Sekundärprophylaxe zur Anwendung.

In der Akuttherapie wird ASS gemäß der aktuellen Leitlinie der Europäischen Gesellschaft für Kardiologie (ESC) weiterhin zur Behandlung des akuten Myokardinfarkts mit ST-Strecken-Elevation (STEMI) empfohlen (Evidenzgrad IB) (52). Im Vergleich zur oralen Einnahme (150 - 300 mg) scheint die intravenöse (i.v.) Applikation (75 – 250 mg) mit einem schnelleren Wirkeintritt und besseren Wirkeffekt verbunden zu sein (53,54). Therapeutisch eingesetzt wird ASS (Initialdosis: 150 - 300 mg/d, Erhaltungsdosis: 75 - 100 mg/d) auch beim akuten Koronarsyndrom ohne ST-Streckenhebung (NSTEMI-ACS) (Evidenzgrad IA), dies jedoch additiv unter Einbeziehung von Plättcheninhibitoren vom Typ der Adenosindiphosphatrezeptor P2Y₁₂-Antagonisten (kurz: P2Y₁₂-Antagonisten), welche den Aktivierungsweg über Adenosindiphosphat (ADP) inhibieren (primär Ticagrelor, alternativ: Clopidogrel) (55) (Abb. 1).

Ausgangspunkt für den Einsatz von ASS als Standardtherapie beim akuten Herzinfarkt war die *Second International Study of Infarct Survivor* (ISIS-2)-Studie unter Einschluss von mehr als 17000 Patienten, bei der ASS die intrahospitale Sterblichkeit um 22 %, die Anzahl von Reinfarkten sogar um 44 % und die Häufigkeit von Schlaganfällen um 37 % reduzierte, verglichen zur Placebogruppe (56). Eine später durchgeführte Metaanalyse zur Bewertung des Vorteiles von ASS bei Hochrisiko-Patienten bestätigte die Daten. So verringerte ASS die Häufigkeit schwerer vaskulärer Ereignisse um ein Viertel, das Auftreten von nicht tödlichem Myokardinfarkt um ein Drittel und nicht tödlichem Schlaganfall um ein Viertel (7).

In der Akuttherapie des ischämischen zerebralen Insultes oder der transitorisch-ischämischen Attacke (TIA) wird ASS nicht mehr eingesetzt, da die Gefahren durch Blutungskomplikationen den geringen positiven Effekt überwiegen. Vor allem bei Lysetherapie steigt das Blutungsrisiko durch simultane ASS-Therapie an (57).

Die Primärprophylaxe mit *low-dose* ASS ergab keinen Nettonutzen, weswegen ASS zur Primärprophylaxe kardiovaskulärer Ereignisse bei Patienten mit niedrigem bis moderatem Risiko nicht mehr empfohlen wird (58–60). Es wird mittlerweile nur noch bei Hochrisikogruppen (z.B. Diabetes mellitus) nach einer sorgfältigen Risiko-Nutzen

Abwägung in der Primärprophylaxe angewendet (61). Ergebnisse der sogenannten ASCEND-Studie (**A Study of Cardiovascular Events in Diabetes**) beschreiben zwar eine Risikoreduktion vaskulärer Ereignisse in der Hochrisikogruppe der Diabetiker, welche jedoch durch vermehrte Blutungsereignisse überschattet wird (60). Die generelle permanente ASS-Einnahme von gesunden Personen wird kritisch gesehen, da einer Risikoreduktion kardiovaskulärer Ereignisse eine erhöhte Inzidenz gastrointestinaler Blutungen gegenübersteht (62,63). Die *United States Preventive Services Task Force* (USPSTF) schlägt allerdings, gestützt auf klinische Daten, eine Primärprävention mit ASS für eine kleine Patientengruppe vor, die folgende Kriterien erfüllt: Alter: 50 - 59 Jahre, Lebenserwartung: > 10 Jahre, geschätztes Risiko, in den nächsten 10 Jahren einen Myokardinfarkt oder Schlaganfall zu erleiden: > 10 %, ASS-Einnahme > 10 Jahre (64). In der aktuellen S3-Leitlinie zur Behandlung des Schlaganfalls von 2020 wird eine primärprophylaktische Gabe von ASS in einer Dosis von 100 mg/d für Patienten mit einem kardiovaskulärem Gesamtrisiko > 20% in den nächsten 10 Jahren mit einem Evidenzgrad IB empfohlen (49).

Im Gegensatz zur Primärprävention ist für die Sekundärprophylaxe nach Herzinfarkt, ischämischen Insulten oder TIA, die frühe Einleitung einer Therapie mit *low-dose* ASS essentiell und wird mit einem Evidenzgrad IA in den aktuellen Leitlinien empfohlen (49). ASS vermag in der Sekundärprophylaxe nach ischämischem Schlaganfall und TIA die Rezidivrate in den ersten Wochen um 60 % zu senken. Die Infarktschwere war unter ASS deutlich reduziert und das neurologische *Outcome* signifikant besser als unter Placebo (65).

Auch im Rahmen der pAVK kommt ASS als Sekundärprophylaxe kardiovaskulärer Ereignisse zum Einsatz, da eine hohe Komorbidität zwischen beiden Erkrankungen besteht (66). Die STIMS (**Swedish Ticlopidine Multicentre-Studie**) und CAPRIE (**Clopidogrel versus Aspirin in Patients at Risk of Ischemic Events**) -Studie sowie die Metaanalyse der *Antithrombotic Trialists' Collaboration* verweisen auf die Notwendigkeit pAVK-Patienten langfristig mit Thrombozytenfunktionshemmern zu behandeln (67). Eine statistisch signifikante Risikoreduktion wurde jedoch nur für Schlaganfälle und nicht für kardiovaskuläre Ereignisse gesehen (68). Dennoch empfehlen die Leitlinien sowohl bei Patienten mit asymptomatischer als auch mit symptomatischer pAVK, ASS in einer Dosis von 75 – 300 mg/d einzunehmen (Evidenzgrad IA) (69–71).

Nicht zuletzt findet *low-dose* ASS bei Polycythaemia vera, einer myeloproliferativen Erkrankung, die über vermehrte Bildung von Blutzellen mit einer Polyglobulie und Hyperviskosität und konsekutiv erhöhtem Thromboserisiko einhergeht, Verwendung, und zwar in Kombination mit Aderlässen zur Primärprophylaxe von Thrombosen. Hierfür wurde ASS 2004 von der EMA (*European Medicines Agency, früher European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMEA)*) der Status als *Orphan Drug* zugesprochen.

| Einsatzbereich | ASS-Dosis | Verabreichungsform | Kombinierte antithrombozytäre Wirkstoffe |
|---|-----------------------------|---|---|
| Akutes Koronarsyndrom ohne ST-Hebung (NSTEMI-ACS) | 75 - 250 mg 150 - 300 mg | Intravenös Oral (Intravenös bevorzugen) | Prasugrel bei geplanter perkutaner koronarer Intervention (PCI), alternativ Clopidogrel ggf. Ticagrelor bei moderatem bis hohem Risiko (z.B. Troponin-Erhöhung) |
| Akutes Koronarsyndrom mit ST-Strecken-Elevation (STEMI) | 75 - 250 mg 150 - 300 mg | Intravenös Oral (Intravenös bevorzugen) | Bei primärer PCI: + Ticagrelor oder Prasugrel (wenn keine Clopidogrel Vorbehandlung, kein Z.n. Apoplex oder TIA und < 75 Jahre), alternativ Clopidogrel Ggf. + GP IIb/IIIa-Inhibitoren wie z.B. Abciximab bei besonders hohem Risiko |
| Ischämischer Hirninsult | 100 mg | Oral (ab 48 h nach Ereignis) | |
| Sekundärprophylaxe (kardiovaskulär) | 100 mg | Oral | Clopidogrel oder Ticagrelor nach Stenteinlage |
| Sekundärprophylaxe (zerebrovaskulär) | 100 mg | Oral | Alternativ Clopidogrel 75 mg |
| Polycythaemia vera | 100 mg | Oral | Primär- und Sekundärprophylaxe von Mikrozirkulationsstörungen |
| Periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK) (Stadium II - IV). Zur Risikoreduktion kardialer und zerebrovaskulärer Ereignisse | 75 – 300 mg | Oral | Alternativ Clopidogrel 75 mg |

Tabelle 1: Übersicht über den evidenzbasierten Einsatz von ASS gemäß der aktuellen Versorgungsleitlinien (44,49,52,72–75). ASS = Acetylsalicylsäure, ADP = Adenosindiphosphat, NSTEMI-ACS = akutes Koronarsyndrom ohne ST-Hebung, pAVK = periphere arterielle Verschlusskrankheit, PCI = perkutane koronare Intervention, STEMI = ST-Strecken-Elevationsmyokardinfarkt, TIA = transitorisch ischämische Attacke

1.4 Pharmakokinetik von ASS

Nach oraler Gabe wird ASS nach 5 bis 15 Minuten vorwiegend im Dünndarm resorbiert. Die Resorption erfolgt durch passive Diffusion gemäß einer Kinetik 1. Ordnung und demnach abhängig von der applizierten Dosis und dem Konzentrationsgradienten (76). Die Resorption wird neben der Dosis, der Applikationsart (53) und der Arzneimittelformulierung (77), vom pH-Wert am Resorptionsort und der Resorptionsfläche beeinflusst.

ASS hat einen pKS-Wert (Säurekonstante) von 3,5, liegt also bei einem pH-Wert von 3,5 zu 50 % dissoziiert vor. In saurem Milieu ist es schlecht löslich und kommt vorwiegend in ungeladener Form vor. Somit wird es im Magen schlecht resorbiert, kann aber in die Magenmukosazellen diffundieren, in denen es dann durch die Änderung des intrazellulären pH-Wertes zerfällt und in geladener Form nicht mehr aus der Zelle hindurchdiffundieren kann. Dieser als *Ion-Trapping* bezeichnete Prozess trägt neben der Hemmung von zytotoxischem PGI_2 zur schlechten Magenverträglichkeit von ASS bei (78).

ASS wird bereits im wässrigen Milieu des Gastrointestinaltraktes, v.a. aber im Pfortader- und systemischen Kreislauf, hydrolytisch in eine Acetylgruppe, welche für den antiaggregatorischen Effekt entscheidend ist, und in Salicylsäure gespalten, welche die antiphlogistische, antipyretische und analgetische Funktion bedingt. Diese Reaktion verläuft nach einer Kinetik 0. Ordnung und ist damit konzentrationsunabhängig (79). Sie kann spontan oder enzymatisch katalysiert durch ubiquitär vorkommende ASS-Esterasen verlaufen (80,81).

ASS unterliegt einem ausgeprägten *First-Pass*-Effekt in der Leber und wird fast vollständig präsystemisch deacetyliert. Daher beträgt die systemische Bioverfügbarkeit nur ca. 45 – 50 % der Initialdosis. Nach i.v.-Verabreichung kommt es durch Umgehung des *First-Pass*-Effektes zu einem schnelleren Anfluten des Wirkstoffs und entsprechend höheren Plasmaspiegeln (53).

Maximale ASS-Plasmaspiegel bei einer oralen Dosierung von 100 - 300 mg werden nach 30 Minuten erreicht (53). In der Fachinformation werden maximale Plasmaspiegel schon nach 10 bis 20 Minuten beschrieben (82). Die HWZ von ASS beträgt ca. 15 - 20 Minuten bis zur hepatischen Metabolisierung in Salicylsäure und die Acetylgruppe. Salicylsäure, welche COX-1 nur reversibel blockiert und für die Thrombozytenfunktionshemmung keine Bedeutung hat, wird langsam (HWZ 3 h) und

dosisabhängig nach einer Kinetik 0. Ordnung abgebaut und seine Metaboliten vorwiegend renal eliminiert (Abb. 3). Der relative Anteil der renal eliminierten Metabolite Salicylsäure, Salicylsäure und der konjugierten Form ist abhängig vom pH-Wert des Urins, weswegen die Ausscheidung von ASS bei Intoxikationen durch Alkalisierung des Urins beschleunigt werden kann. Das Verteilungsvolumen ist dosis- und pH-Wert-abhängig und beträgt ca. 0,1 - 0,2 l/kg. Die Plasmaeweißbindung liegt konzentrationsabhängig zwischen 49 % und 70 % (82,83).

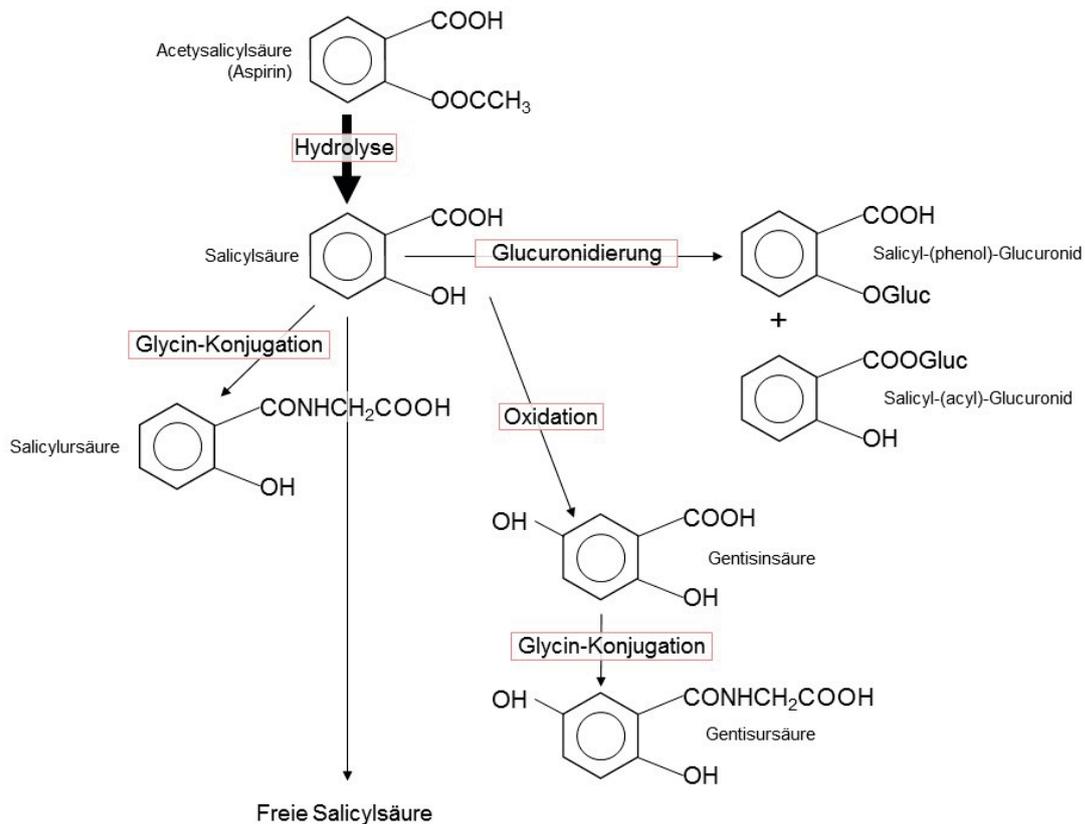


Abb. 3: Metabolismus von Acetylsalicylsäure.

Der initiale und Hauptmetabolisierungsweg stellt die Hydrolyse zur Salicylsäure dar, in dessen Rahmen ASS seine antithrombozytäre Funktion durch Verlust des Acetylrestes und Bindung an die COX-1 entfaltet (s. Abb. 2). Salicylsäure wird entweder als freie Salicylsäure oder nach weiterer Metabolisierung über oben genannte Wege renal eliminiert. Hier steht die Glycin-Konjugation zu Salicylursäure im Vordergrund. Angelehnt an (84).

1.5 Der klinische Einsatz von Metamizol und seine Bedeutung in der Schmerztherapie

Metamizol wird seit 1922 in der Schmerztherapie verwendet und steht als Injektionslösung, Suppositorium, Saft, Tropfen oder in Tablettenform zur Verfügung. Neben analgetischen Eigenschaften verfügt Metamizol darüber hinaus auch über antipyretische, spasmolytische und (schwache) antiphlogistische Eigenschaften (85).

Metamizol ist zur Behandlung von chronischem und akutem Schmerz als Stufe I Analgetikum, gemäß dem WHO (*World Health Organization*)-Stufenschema zugelassen (86). Zu den typischen Indikationen zählt die postoperative oder posttraumatische Akutschmerztherapie, die Therapie von Koliken und Tumorschmerzen, aber auch die antipyretische Therapie, wenn andere Maßnahmen nicht gegriffen haben (87). Besonders der spasmolytische Effekt durch Hemmung der intrazellulären Calciumfreisetzung macht Metamizol zu einem beliebten Analgetikum bei Nieren- oder Gallenkoliken und akutem Bauchschmerz (88–90).

Bei stärksten Schmerzen wird Metamizol gerne in Kombination mit Opioiden eingesetzt, wobei eine Einsparung der Opiode um 20 – 67 % erreicht und damit einhergehend auch Nebenwirkungen, wie insbesondere das Auftreten einer Koprostase, vermieden werden können (91–93). Unter anderem daher ist sein Einsatz in der Palliativmedizin sehr beliebt (94,95). Ein weiteres Anwendungsgebiet stellt der primäre Spannungs- und Migränekopfschmerz dar (96–99).

Neueren Studien zufolge scheint der Nutzen von Metamizol über die Analgesie und Antipyrese hinauszugehen. Experimentelle Studien an Ratten deuten auf einen positiven Effekt auf Vasospasmen nach Subarachnoidalblutungen hin (100). Ein antikonvulsiver Effekt von Metamizol wurde im Tiermodell beschrieben (101,102). Die Forschungsgruppe um Zhang et al. konnte Metamizol eine neuroprotektive Wirkung nach zerebraler Ischämie im Mausmodell attribuieren (103). Diese Eigenschaft macht es besonders für Schlaganfallpatienten interessant. Auch Asthmapatienten könnten von der Einnahme Metamizols profitieren, da Studien eine signifikant verbesserte Relaxation der Muskulatur der kleinen Atemwege unter Metamizoltherapie beobachteten (104).

In Deutschland, Ungarn, Italien, Portugal und Spanien ist Metamizol verschreibungspflichtig, in vielen anderen europäischen Ländern, sowie in vielen Teilen Asiens, Südamerika und Afrika jedoch als „*Over-the-counter*“ (OTC)-Präparat rezeptfrei erhältlich. In Schweden und USA ist Metamizol aufgrund der sehr seltenen (Häufigkeit 1:1.000.000) (105), aber schweren Nebenwirkung der Agranulozytose, nicht mehr zugelassen, wobei aber aufgrund der Globalisierung die Menschen auch hier mit Metamizol in Kontakt kommen (106).

Bei der Agranulozytose handelt es sich um eine Verminderung der Granulozytenzahl $< 500/\mu\text{l}$, die mit einer gesteigerten Infektanfälligkeit bis hin zum Tod durch eine eingeschränkte Immunantwort einhergehen kann. Ursächlich ist eine

immunoallergische Reaktion auf an Granulozyten gebundene Metamizolmetabolite, die eine Aktivierung des Komplementsystems und schließlich den Untergang von Granulozyten auslöst (107).

Aufgrund zunehmender Verschreibungszahlen in den letzten Jahren (Abb. 5) wird auch die Meldung von Agranulozytosefällen unter Metamizol häufiger, weshalb das Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) im Jahr 2009 bereits auf die Einhaltung der strengen Indikation in der Verordnung von Metamizol hinwies (108). Dennoch steigen die Verschreibungszahlen von Metamizol weiter an. In Ungarn besitzt Metamizol als potentes Schmerzmittel eine so hohe Beliebtheit, dass seine Metaboliten sogar im Abwasser nachgewiesen werden konnten (109).

Ein weiteres potentiell letales Risiko in der Anwendung von Metamizol liegt in anaphylaktischen Reaktionen. Das Risiko einer lebensbedrohlichen Anaphylaxie ist vor allem nach parenteraler Anwendung erhöht und wird auf 1:5.000 und damit weit über dem Risiko für Agranulozytose geschätzt (110). Schwere Hypotonien sind nach zu schneller i.v.-Applikation berichtet worden, deren potentielle Ursache in einer dosisabhängigen Öffnung von Kalium-Kanälen und dadurch antagonistischen Effekt auf Angiotensin II zurückgeführt wird (111).

Trotz enger Indikationsstellung wird Metamizol auch bei milden Schmerzen verordnet. Eine deutsche Studie von Stammschulte et al. zeigte bei einem Viertel aller untersuchten Verordnungen von Metamizol einen *Off-Label-Use* (112).

Insgesamt ist Metamizol trotz der erwähnten Nebenwirkungen ein Pharmakon mit großer therapeutischer Sicherheit und starker pharmakologischer Potenz. Gerade nach Operationen hat sich Metamizol als wertvoll erwiesen, da es vermutlich keine wesentliche Hemmung der Thrombozytenfunktion auslöst und somit unter Therapie kein erhöhtes Nachblutungsrisiko besteht (113). Günstig zu bewerten ist zudem die geringe renale und gastrointestinale Toxizität von Metamizol, mit der es sich deutlich von anderen nichtopioiden Analgetika wie z.B. Ibuprofen unterscheidet.

1.6 Potentielle Wirkweise von Metamizol

Die Wirkmechanismen Metamizols sind bisher noch nicht vollständig aufgeklärt. Bekannt ist, dass Metamizol nicht selektiv und reversibel COX-1- und COX-2 hemmt (25). Untersuchungen von Rohdewald et al. belegten eine Assoziation zwischen Beginn und Dauer der analgetischen Wirkung von Metamizol und der

Speichelkonzentration seiner Metabolite 4-Methylaminoantipyrin (MAA) und 4-Aminoantipyrin (AA) (114). Da MAA und AA die Blut-Hirn-Schranke überwinden können (115), ist davon auszugehen, dass Metamizol neben peripheren Wirkungen auch zentrale Effekte ausübt. So ist neben einer Hemmung von im Hinterhorn des Rückenmarkes lokalisierten Nozizeptoren auch eine Aktivierung absteigender Bahnen beschrieben (116).

Aktuelle Studien verweisen ferner auf eine durch *Fatty acid amide hydrolase* (FAAH) getriggerte weitere Metabolisierung von AA und MAA zu Arachidonsäureamiden (117). Für Arachidonsäureamide ist beschrieben, dass sie im zentralen Nervensystem (ZNS) agonistisch an Cannabinoid-Rezeptoren-1 (CB1) binden und die Transmission durch Gamma-Aminobuttersäure (GABA) im periaquäduktalen Grau herunterfahren (118–120). Weitere Berichte verweisen auf eine Aktivierung des L-Arginin/NO/cGMP/Kalium-Kanal-Signalweg durch Metamizol (121–123).

Eine Hemmung von in die Kontrolle von Schmerz und Temperatur eingebundenen *transient receptor potential channel* (TRPA-Kanälen) in Gegenwart von Metamizol wurde ebenfalls beobachtet (124). Ferner wurde auch eine Inhibierung der Nozizeption über eine endogene Opioidfreisetzung beschrieben (125,126). Zumindest im Tiermodell wurde die Freisetzung von β -Endorphinen aus der Hypophyse und dem Hypothalamus nachgewiesen (127).

Die spasmolytischen Eigenschaften Metamizols werden über eine Veränderung der Inositol-1,4,5-trisphosphat (IP_3) abhängigen Signalkaskade mit reduzierter intrazellulärer Ca^{2+} -Freisetzung erklärt. Da die Interaktion eines Liganden mit dem CB1-Rezeptor spasmolytische Aktivitäten auszulösen vermag (128), könnten möglicherweise auch die Arachidonsäureamide über die Stimulierung der CB1-Rezeptoren zur Spasmolyse beitragen (117).

Aufgrund seines nahezu neutralen pKS-Wertes entfaltet Metamizol in entzündetem Gewebe nur wenig Wirkung, was seine nur schwache antiphlogistische Potenz erklären mag (129).

1.7 Pharmakokinetik von Metamizol

Metamizol ist ein instabiles *Pro-Drug*, welches sehr rasch im Magen durch Hydrolyse zu seinem pharmakologisch aktiven Hauptmetaboliten 4-Methylaminoantipyrin (MAA) umgesetzt und dann resorbiert wird. Die Bioverfügbarkeit nach oraler Gabe liegt bei ca. 90 %. Maximale Plasmaspiegel von MAA nach Einnahme von 500 - 1000 mg Metamizol werden nach ca. 1 bis 2 Stunden erreicht (130). Bezogen auf die Einnahme von 500 mg Metamizol beträgt die HWZ ca. 3,2 Stunden, die maximale Plasmakonzentration 13,6 $\mu\text{mol/l}$ (130). Nach Einnahme von 1 g Metamizol können MAA-Plasmaspiegel von ungefähr 100 μM gemessen werden, wobei starke interindividuelle Schwankungen zu berücksichtigen sind (131).

Im Blut wird MAA zu verschiedenen weiteren Metaboliten umgesetzt: 4-Formylaminoantipyrin (FAA) und 4-Aminoantipyrin (AA). AA wird, je nach Enzymkonstitution (Schnell-/Langsamacetylierer), unterschiedlich schnell (3,8 - 5,5 h) mit Hilfe der unspezifischen N-Acetyltransferase zu 4-Acetylaminoantipyrin (AAA) umgesetzt. (132). Insgesamt sind mehr als 20 verschiedene Metabolite von Metamizol beschrieben (133). Dazu zählen auch Arachidonsäureamide (117). Von allen Metamizolmetaboliten übt MAA die stärkste und längste hemmende Wirkung auf COX aus, gefolgt von AA. Das Ausmaß der COX-Hemmung korreliert dabei positiv mit den jeweiligen gemessenen Plasmaspiegeln (130).

Metamizol wird hepatisch metabolisiert und überwiegend renal nach einer nicht linearen Kinetik eliminiert (Abb. 4). Bei Leberinsuffizienz sollte demnach die Dosis von Metamizol angepasst werden, bei Niereninsuffizienz kann es zu einer potentiellen Kumulation von Metaboliten kommen.

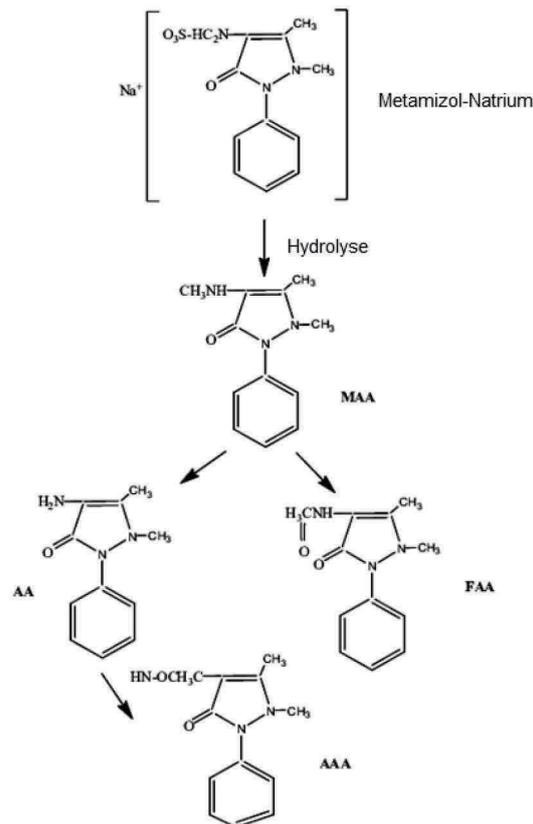


Abb. 4: Metabolismus von Metamizol.

Struktur von Metamizol-Natrium, 4-Methylaminoantipyrin (MAA), 4-Formylaminoantipyrin (FAA), 4-Aminoantipyrin (AA), 4-Acetylaminoantipyrin (AAA). Angelehnt an (90).

1.8 Polypharmazie und Arzneimittelinteraktionen als Risikofaktoren für insuffiziente Pharmakotherapie

Mit zunehmendem Alter steigt die Anzahl an Komorbiditäten, die zur parallelen Einnahme mehrerer Medikamente führen und eine suffiziente pharmakotherapeutische Behandlung durch potentielle Arzneimittelinteraktionen erschweren (134,135).

Viele Patienten weisen beispielsweise eine chronische Schmerzanamnese auf, weswegen sie Analgetika einnehmen (136,137). Einzelne Schmerzmittel scheinen jedoch mit *low-dose* ASS zu interferieren.

Da die Prävalenz atherosklerotischer Folgeerkrankungen, wie auch chronischer Schmerzen, mit dem Alter ansteigt, ist eine Häufung einer Komedikation von Analgetika und *low-dose* ASS naheliegend. Ungefähr 40 % der KHK-Patienten leiden unter chronischen Schmerzen und nehmen daher Analgetika ein (138). Bei Schlaganfallpatienten ist die Inzidenz von Schmerzzuständen mit ca. 65 % sogar noch höher und sogar 79 % hiervon werden analgetisch therapiert (139).

Studien der letzten Jahre haben gezeigt, dass diverse Schmerzmittel mit ASS interagieren können (16,140). Neben NSAID wie z.B. Ibuprofen (15), Indomethazin (21), Naproxen (22), Celecoxib (141), trat dieses Phänomen auch unter analgetischer Therapie mit Metamizol und andere Substanzen aus der Gruppe der Pyrazolone (z.B. Propyphenazon) auf (25,28).

Die HWZ von ASS ist kurz und somit der Zeitraum, in dem ASS die thrombozytäre COX-1 hemmen kann, begrenzt. Werden parallel zu ASS Medikamente eingenommen, die eine höhere Affinität zum katalytischen Zentrum der COX-1 aufweisen und/oder zusätzlich noch eine längere HWZ besitzen und somit länger auf die COX-1 einwirken können, besteht ein hohes Interaktionspotential. Diese pharmakodynamische Wechselwirkung wird sowohl für NSAID wie auch den Metamizolmetaboliten MAA und in geringerem Maße auch dem Metamizolmetaboliten AA beschrieben (25,140,142).

Die unerwünschte Wechselwirkung ist unter dem Aspekt der häufigen Anwendung von Metamizol klinisch bedeutsam. Laut Arzneiverordnungsreport steigt die Zahl der Metamizol-Verordnungen seit zehn Jahren kontinuierlich an, von 40 Millionen (Mio.) Tagesdosen im Jahr 2004 auf mittlerweile 190 Mio. Tagesdosen im Jahr 2016. Der Anteil der Verordnungen von Metamizol innerhalb der Nicht-Opioid-Analgetika lag im Jahr 2016 gar bei 90 % (143) (Abb. 5). Somit ist eine potentielle Interaktion von Metamizol und *low-dose* ASS von großem Interesse, da beide Medikamente sehr häufig eingesetzt werden.

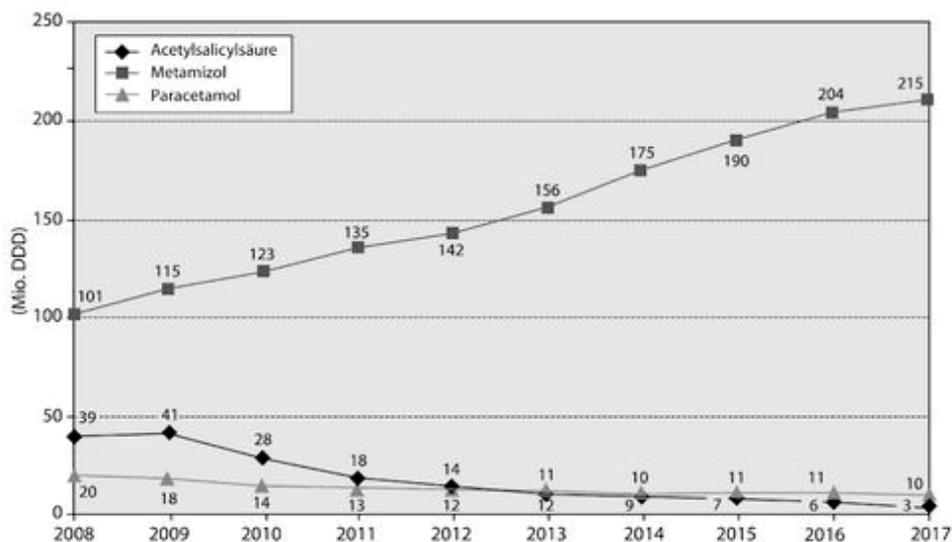


Abb. 5: Steigende Beliebtheit von Metamizol gemessen an den Verordnungszahlen in Deutschland von 2008 bis 2017.

Verordnungszahlen von Acetylsalicylsäure, Metamizol und Paracetamol aus (144).

1.9 Terminologie, Diagnostik und klinische Relevanz einer verminderten ASS-Wirkung: ASS Resistenz, *ASS-Non-Response* bzw. *High on-aspirin (treatment) platelet reactivity* (HAPR)

Die Beobachtung, dass bestimmte Patienten trotz antithrombozytärer Behandlung eine persistierende Thrombozytenfunktion aufweisen, ist Gegenstand intensiver Forschung (11,12,145–148). Multiple Studien und große Metaanalysen demonstrieren, dass dieses Phänomen mit einer signifikant erhöhten Morbidität und Mortalität einhergeht (149–153). Dies betrifft sowohl Schlaganfallpatienten (153,154) als auch Patienten, die an pAVK leiden (155) oder KHK-Patienten (149,151). Patienten nach operativer aortokoronarer Bypassversorgung (156) und auch nach PCI (152,157,158) waren bei *ASS-Non-Response* von einer signifikant höheren Okklusionsrate und Mortalität betroffen. Umgekehrt fand sich bei Patienten mit Stent-Thrombosen auch häufiger eine *ASS-Non-Response* (159,160). Manche Studien konnten hingegen keinen Zusammenhang zwischen *ASS-Non-Response* und klinischen Ereignissen bei Patienten mit stabiler KHK herstellen (161–164).

Zwischen den einzelnen Studien zeigen sich jedoch erhebliche Unterschiede in der beschriebenen Prävalenz von *ASS-Non-Response*, da bisher keine Konsensusdefinition zur laborchemischen Diagnostik oder einheitliche *Cut-Off*-Werte etabliert sind. Auch die Terminologie der eingeschränkten *low-dose* ASS-Wirkung wird uneinheitlich gehandhabt.

Der Terminus ASS-Resistenz oder englisch „*ASA-Non-Response*“ bezeichnet primär ein laborchemisches Phänomen, bei dem ASS-sensitive bzw. ASS-„resistente“ Patienten anhand von Thrombozytenfunktionstests oder Surrogatparametern für die Plättchenfunktion ermittelt werden. Es stehen hierzu unterschiedlichste Messverfahren und Reagentien zur Verfügung.

Ferner kann man eine klinische ASS-Resistenz, die mit klinischen Ereignissen einhergeht von einer pharmakologischen ASS-Resistenz, bei der ASS seinen eigentlichen Wirkmechanismus, die TXA₂-Synthesehemmung, nicht entfalten kann, und eine funktionelle ASS-Resistenz, bei der es unter Therapie weiterhin zu einer Aggregation in Thrombozytenfunktionstests kommt, unterscheiden (165–168). Der Begriff *ASS-Non-Response* (bzw. ASS-„Resistenz“) ist insofern umstritten, als er das Phänomen einer ausbleibenden ASS-Wirkung nur unzureichend über den Laborparameter „Plättchenaggregation“ oder Thromboxansynthese beschreibt (13).

Kommt es unter ASS-Therapie zu klinischen Endpunkten wie Progression der KHK, Angina Pectoris, Okklusion von Bypässen oder Stents, Myokardinfarkt oder gar Tod (die zerebralen Gefäße betreffend entsprechend Synkope, TIA, Apoplex oder Tod), sollte der Terminus „Therapieversagen“ verwendet werden.

Eine gesteigerte Thrombozytenreagibilität kann auch durch Faktoren, die nicht durch ASS beeinflussbar sind, ausgelöst werden und über diesen Weg prothrombotischen Einfluss nehmen. Im Gegensatz zum Begriff *ASS-Non-Response* bzw. *ASS-„Resistenz“* berücksichtigt der Terminus *High on-treatment platelet reactivity* (HTPR) diesen Umstand, indem das Plättchenverhalten *per se* mehr in den Fokus gerückt wird. Man spricht entsprechend von „*High on-aspirin (treatment) platelet reactivity*“ (HAPR), wenn ASS eingesetzt wird und von „*High on-clopidogrel (treatment) platelet reactivity*“ (HCPR), wenn Clopidogrel zum Einsatz kommt. Einige Autoren unterscheiden zudem noch eine sogenannte „*Residual platelet reactivity*“ (RPR).

Die Ursachen für HAPR sind vielfältig und lassen sich grob in pharmakokinetische, pharmakodynamische, genetische und biologische Ursachen unterteilen (169). Die in dieser Studie untersuchte Arzneimittelinteraktion von ASS und Metamizol gehört zu den pharmakodynamischen Ursachen und stellt eine wichtige, da potentiell vermeidbare Ursache dar.

Bislang ist kein validierter und standardisierter Test etabliert, der eine Vorhersage für das Ansprechen der Patienten auf die ASS-Therapie ermöglicht. Sämtlichen bisher eingesetzten Testmethoden zur Diagnostik einer *ASS-Non-Response* ist eine hohe Inter-Test-Variabilität eigen und sie sind daher nicht mit dem ASS-Effekt korrelierbar (170,171). Verschiedene Testverfahren können sogar bei der gleichen Patientenpopulation zu unterschiedlichen Ergebnissen führen (172). Für besonders häufig genutzte Testmethoden wie z. B. die Lichttransmissionsaggregometrie (LTA) (s. Kapitel 2.3.3.) wird versucht für eine bessere Vergleichbarkeit zwischen den Studien *Cut-Off* Werte zu etablieren (173). Eine einheitliche und vergleichbare Quantifizierung der *ASS-Non-Response* wurde jedoch bisher noch nicht erreicht. Der Einsatz von Schnelltestverfahren in Form von patientennaher Labordiagnostik (sog. „*Point-of-care testing*“ (POCT)) v.a. in Risikogruppen (z.B. Diabetikern, Mehr-Gefäß-KHK, chronische Niereninsuffizienz) wird in vielen Studien diskutiert, jedoch bisher noch nicht flächendeckend durchgeführt (174,175) und auch nicht empfohlen (39,176). Ein vermindertes Ansprechen auf *low-dose* ASS wird demnach im

klinischen Alltag meist erst evident, wenn es schon zu thrombembolischen Komplikationen gekommen ist.

In der vorliegenden Studie wird durchgehend von *ASS-Non-Response* gesprochen, da die Interaktion zwischen ASS und Metamizol anhand von Thrombozytenfunktionstests (Aggregationsmessungen und TXB₂) gezeigt wurde. Zur Vereinfachung der Terminologie wird auch bezüglich anderer Studien, die sich mit dem Thema befassten, der Terminus *ASS-Non-Response* verwendet.

1.10 Zielsetzung und Fragestellung

Ziel der vorliegenden Dissertation war es, die von Hohlfeld et al. (25) präsentierten Daten in einer Gruppe von Schmerzpatienten zu verifizieren. An einem Kollektiv von Patienten unter Metamizol- und gleichzeitiger *low-dose* ASS-Therapie sollte die Thrombozytenfunktion (Aggregation, Thromboxansynthese) evaluiert und mit derjenigen einer Patienten-Kohorte unter alleiniger *low-dose* ASS-Therapie verglichen werden, um die Frage zu klären, ob die Schmerztherapie mit Metamizol die Plättchenfunktion von Patienten unter antithrombozytärer Therapie mit *low-dose* ASS beeinflusst.

Weitere Teilfragen waren:

- Handelt es sich bei der Interaktion um einen kompetitiven Antagonismus, der durch nachträgliche *ex vivo* Zugabe von ASS in hoher Konzentration überwunden werden kann?
- Wie hoch sind die Plasmaspiegel des pharmakologisch wirksamen Metamizolmetaboliten MAA und ist ihre Höhe ausreichend, um mit ASS zu interferieren?
- Besteht ein Zusammenhang zwischen Patientencharakteristika und Thrombozytenfunktion unter kombinierter Behandlung mit Metamizol und *low-dose* ASS?

2 Material und Methodik

2.1 Studienplanung

Nachdem ein positives Votum der Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf vorlag (Nr. 3271), wurde die klinisch experimentelle Studie in Übereinstimmung mit der Deklaration von Helsinki durchgeführt und am 04.03.2010 im „Deutschen Register Klinischer Studien (DRKS)“ registriert (DRKS-ID: DRKS00000204). Die *Universal Trial Number* (UTN) lautet U1111-1113-3946.

Die Studie wurde als prospektive nicht verblindete Beobachtungsstudie an 30 Schmerzpatienten unter Therapie mit Metamizol und *low-dose* ASS (Patientengruppe 1) und 10 Kontrollpatienten unter *low-dose* ASS aber ohne Metamizoltherapie (Patientengruppe 2) geplant. Vor Einschluss in das Studienkollektiv wurden alle Patienten ausführlich über den Ablauf und die Zielsetzung der Studie, sowie potentielle Risiken und ihr Recht auf Widerruf der Studienteilnahme, aufgeklärt und ihr schriftliches Einverständnis eingeholt.

2.1.1 Vorversuche

In Vorversuchen wurde an Blutproben 5 gesunder freiwilliger Probanden der Einfluss verschiedener Stimuli der Thrombozytenfunktion (ARA, Kollagen) in verschiedenen Konzentrationen für die Aggregation und Thromboxansynthese untersucht, um das Studienversuchsprotokoll festzulegen und die Patientenstudie unter den als bestmöglich getesteten Voraussetzungen durchführen zu können. Einen Überblick über den Ablauf der Pilotstudien gibt Abbildung 6. Bei den Probanden handelte es sich um Mitarbeiter und freiwillig teilnehmende Studierende am Institut für Pharmakologie und Klinische Pharmakologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.

Die gesunden Probanden durften für mindestens 7 Tage weder NSAID (inklusive ASS) noch Metamizol eingenommen haben, nicht unter Antikoagulation in therapeutischer Dosierung (d.h. außer der Thromboseprophylaxe mit z.B. niedermolekularem Heparin) stehen und mussten frei von Erkrankungen sein, die zu relevanten Veränderungen der Thrombozytenfunktion oder Hämostase führen können.

Sie wurden mündlich und schriftlich aufgeklärt und gaben ihre schriftliche Einverständniserklärung für die Teilnahme an der Untersuchung ab.

Vorversuch 1:

Um herauszuarbeiten, A) ab welcher Konzentration von MAA die ASS-Wirkung herabgesetzt wird und B) ab welcher ASS-Konzentration der durch MAA ausgelöste Hemmeffekt kompensiert werden kann, wurde der Einfluss verschiedener Konzentrationen von ASS (1, 3, 10, 30, 100 μM), kombiniert mit verschiedenen Konzentrationen von MAA (0,3, 1, 3, 10, 30 μM), auf die Thrombozytenfunktion im plättchenreichen Plasma (PRP) analysiert.

Vorversuch 2:

Möglicherweise lassen sich in Gegenwart von Kollagen unter *in vitro* Bedingungen ähnliche Effekte auf die Thrombozytenaggregation auslösen wie unter ARA. In diesem Falle könnte die Bedeutung der Metamizol-ASS-Interaktion für das hämostatische Geschehen realitätsnah untersucht werden, da die Freisetzung von ARA (sowie seines Metaboliten TXA_2) hier aus endogenen Phospholipiden und -pathophysiologisch besonders relevant – erst nach Kontakt der Thrombozyten mit Kollagen der subendothelialen Matrix erfolgt. Entsprechend wurde evaluiert, ob die Thrombozytenaktivierung durch Kollagen im PRP-Ansatz zu einer nennenswerten Aggregation und/oder Thromboxan-Synthese führt und ob die Interaktion zwischen MAA (0,3, 1, 3, 10, 30 μM) und ASS (30, 40, 80 μM) auch unter Stimulation mit Kollagen (2 μM) eintritt. In diesem Versuchsansatz wurde zuvor für jede PRP Probe die niedrigste Konzentration von ASS bestimmt, welche noch zu einer vollständigen Hemmung der Thrombozytenfunktion führte bestimmt und im Versuchsansatz konstant gehalten. Die Konzentration von MAA wurde der mit ASS versetzten PRP-Probe in aufsteigender Dosierung (0,3 μM , 1 μM , 3 μM , 10 μM , 30 μM) zugesetzt.

Vorversuch 3:

Um die Interaktion zwischen ASS und MAA unter dynamischen Aspekten zu betrachten, wurde die Arzneimittelinteraktion im Zeitverlauf gemessen (0, 15, 30, 45, 60, 90 Minuten). Die Messung der Thrombozytenfunktion anhand von Aggregationsmessungen und Messung der resultierenden Thromboxansynthese erfolgten sowohl im Vollblut als auch im PRP-Ansatz, so dass zusätzlich mögliche Differenzen zwischen Vollblut- und PRP-Aggregation dargestellt werden konnten.

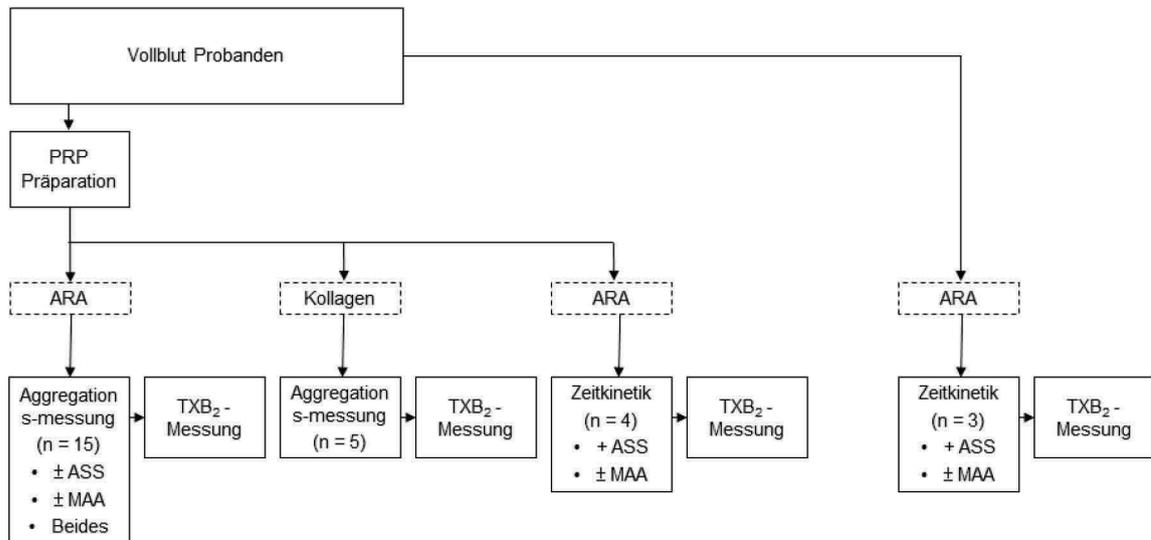


Abb.6: Ablauf der Vorversuche

Gestrichelter Kasten: Stimulus der Plättchenaggregation. Die Anzahl der jeweils einbezogenen Probanden ist angegeben. Abkürzungen: ARA = *arachidonic acid* (Arachidonsäure), PRP = plättchenreiches Plasma, ASS = Acetylsalicylsäure, TXB₂ = Thromboxan B₂ (stabiles Abbauprodukt von TXA₂)

2.1.2 Patientenstudie

Fallzahlplanung:

Die Fallzahlplanung orientierte sich an der Aktivierung der Arachidonsäure-induzierten Thrombozytenaggregation (177). Zur Festlegung eines klinisch relevanten „Effekts“ wurden Daten von Funck-Jensen et al. aus 2013 herangezogen (178). Diese Autoren beschrieben an Patienten mit akutem transmuralen Myokardinfarkt (STEMI) eine mittels Arachidonsäure-induzierter Aggregation nachweisbare Thrombozytenaktivierung bei Infarkt mit Rückbildung über ein 3-monatiges *Follow-up*. Zum Zeitpunkt des Infarkts war die Thrombozytenaktivität (Median) gegenüber *Follow-up* 1,6-fach erhöht. Dies wurde für die Fallzahlplanung der vorliegenden Studie als Kriterium für eine klinisch relevante Thrombozytenaktivierung festgelegt. In einer früheren Studie der eigenen Arbeitsgruppe (Zimmermann et al., 2003) wurde die Arachidonsäure-induzierte Aggregation bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit mit $5,15 \pm 1,98$ (SD) cm/sec bestimmt (179). Bei Zugrundelegung dieser Größen, eines α von 0,05 und eines β von 0,2 ergab sich eine Stichprobengröße von mindestens 8 Patienten pro Untersuchungsgruppe, um eine „relevante“ Erhöhung der Thrombozytenaggregation beim Vergleich von 2 unabhängigen Untersuchungsgruppen (mit bzw. ohne

Analgesie mit Metamizol) erkennen zu können. Um eventuelle Ausreißer auszugleichen, wurde die Fallzahl auf 30 in Gruppe 1 und 10 in Gruppe 2 erhöht.

In der klinischen Studie wurden die Patientengruppen 1 und 2 vergleichend evaluiert.

Die Rekrutierung der Patienten erfolgte über die Schmerzambulanz und Änesthesiologie der Uniklinik Düsseldorf über den Zeitraum vom 11.09.2009 bis zum 16.07.2012.

Neben 14 ambulanten Schmerzpatienten nahmen auch 26 stationär therapierte Patienten aus verschiedenen Kliniken der Universitätsklinik Düsseldorf (Herz-Thoraxchirurgie, Orthopädie und Unfallchirurgie, Allgemeinchirurgie, Augenklinik, Internistische Klinik (Nephrologie, Gastro-Enterologie, Kardiologie), Hautklinik) an der Studie teil.

Im Rahmen der klinischen Studie waren folgende Analysen vorgesehen:

1. Aggregationsmessungen nach Born im PRP nach Stimulation mit ARA (1 mM) ohne Zusatz von ASS *in vitro* (sog. „Kontrollmessung“), und nach nachträglicher Zugabe von ASS (30 µM, 100 µM) zum Patienten-PRP; Quantifizierung mittels Steigung der Aggregationskurve und Amplitude
2. Thromboxanbestimmung (TXB₂) aus dem plättchenarmen Plasma (PAP) der gemäß Punkt 1 und 2 mit ARA stimulierten PRP-Proben mittels *Radioimmunoassay* (RIA)
3. Plasmaspiegelbestimmung von Metamizolmetaboliten (MAA, AA, AAA) aus PAP mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (*High Performance Liquid Chromatography* (HPLC))

2.2 Patienten und Probanden

2.2.1 Ein- und Ausschlusskriterien

Grundvoraussetzung für die Studienteilnahme war neben Volljährigkeit und informierter Einverständniserklärung, die regelmäßige Einnahme niedrig dosierter ASS (100 mg/d als Aspirin® oder Generika) seit mehr als 7 Tagen gemäß klinischer Indikation.

Das Design der Studie war beobachtend. Die medikamentöse Behandlung wurde nicht verändert. Patienten der Gruppe 1 erhielten eine analgetische Therapie mit

Metamizol (als Novalgin®, Novaminsulfon® oder Generika), die eine Dosierung von 1500 mg/d nicht unterschritt und die Tageshöchstdosis von 4000 mg/d nicht überschritt. Die gewichtsadaptierte Dosis musste 10 bis 20 mg/kg KG pro Dosis betragen. Die Gabe sollte mindestens 2-mal, aber nicht mehr als 4-mal pro Tag erfolgen.

In Gruppe 1 musste Metamizol seit mindestens 5 Tagen eingenommen worden sein, wohingegen Patienten der Untergruppe 2 (Kontrollgruppe) explizit kein Metamizol eingenommen haben durften.

Als Ausschlusskriterien für beide Gruppierungen galten die Einnahme von ASS in Dosierungen >100 mg/d innerhalb der letzten 7 Tagen, eine Therapie mit anderen NSAID und die Einnahme andere Thrombozytenfunktionshemmer (z.B. Clopidogrel, Prasugrel, Ticagrelor, Abciximab o.a.). Ferner durften die Studienteilnehmer nicht unter Antikoagulation in therapeutischer Dosierung (d.h. außer der Thromboseprophylaxe mit z.B. niedermolekularem Heparin) stehen und mussten frei von Erkrankungen sein, die zu relevanten Veränderungen der Thrombozytenfunktion oder Hämostase führen können.

Da die bisherige Pharmakotherapie der Patienten unverändert fortgeführt wurde und das Studienprotokoll nicht modulierend in das Therapieschema eingriff, wurden auch keine Abbruchkriterien für die Studie festgesetzt.

Insgesamt 40 Patienten im Alter von 45 - 88 Jahren konnten für die Studienteilnahme rekrutiert werden. Davon erfüllten 27 die Kriterien für die erste Gruppe und 10 die für die zweite Gruppe.

2.2.2 Patientendaten

Die Erhebung von Patientendaten erfolgte von November 2009 bis Juli 2012. Der Patient bearbeitete gemeinsam mit dem Schmerztherapeuten vor der Blutentnahme einen Erhebungsbogen, der in detaillierter Form, dem Anhang beigelegt ist (s. Anhang).

Neben allgemeinen Patientencharakteristika wie Name, Körpergewicht, Körpergröße, Alter und Angaben zu den Ein- und Ausschlusskriterien wurden auch die vaskuläre Grunderkrankung und Indikation für die Therapie mit *low-dose* ASS, sowie bekannte vorherige atherothrombotische Ereignisse notiert. Neben der Indikation für die

Metamizoltherapie wurden Dosierung, Einnahmezeitraum und Einnahmefrequenz von Metamizol und der Zeitpunkt der letzten Einnahme des Analgetikums notiert. Ebenso wurde der Zeitpunkt der Blutentnahme schriftlich festgehalten.

Es wurden des Weiteren auch aus archivierten Patientendokumenten wie Arztbriefen, Narkoseprotokollen und Untersuchungsberichten unter Zuhilfenahme des Krankenhausinformationssystemes Medico® (Firma Cerner) weitere studienrelevante Informationen wie Begleitmedikation und Begleiterkrankungen eingeholt. Für 5 ambulant betreute Patienten war eine vollständige Datenerhebung im Bezug auf die Begleitmedikation nicht möglich, sodass diese in die Auswertung der Begleitmedikation nicht einbezogen wurden.

Die Studienteilnehmer wurden mit fortlaufender Nummer pseudonymisiert und ihre Daten unter dieser Nummer streng vertraulich gemäß der Richtlinien des Datenschutzes gesammelt.

2.3 Methoden

2.3.1 Blutentnahme

Für die Vorversuche wurde den Probanden 20 ml Vollblut mittels Butterflynadel aus der Vena mediana cubiti direkt in eine mit dem Antikoagulans Citrat (*Acid-Citrat-Dextrose* (ACD)) im Verhältnis 1:10 befüllte Luer-Lock-Spritze (Omnifix® Solo 20ml, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) entnommen. Es wurde darauf geachtet, dass kein starker Sog ausgeübt wird, die Spritze wiederholt zur Durchmischung mit dem Antikoagulans und Verteilung der Blutkomponenten geschwenkt wurde und die Probe dann unverzüglich weiterverarbeitet wurde.

Die Entnahme von Blutproben für die klinische Studie wurde über die Schmerzambulanz koordiniert. 9 ml venöses Blut wurden mittels Butterfly-Venenpunktionskanüle mit 21 bzw. 23 Gauge (G) (BD Safety-Lok™, Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland) in Vakuumentnahmetechnik mittels Vacutainer®-System in 2 Citrat-Röhrchen (Beckton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland) mit einem Volumen von jeweils 4,5 ml und einem Anteil von 3,8 % Citrat entnommen und unmittelbar nach der Blutentnahme in das Labor des Institutes für Pharmakologie und klinische Pharmakologie der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf transportiert, wo die frischen Blutproben unverzüglich weiterverarbeitet

wurden. Bei Vorhandensein eines zentralen Venenkatheters wurde nach Ausschluss von Verdünnungsartefakten auch zentralvenöses Blut für die Studie verwendet um unnötige Punktionen zu vermeiden.

Auf die Einhaltung einer korrekten präanalytischen Verfahrensweise wurde geachtet. Alle Citratröhrchen waren ausreichend gefüllt, wurden wiederholt geschwenkt, wurden zur Vermeidung des Kontaktes mit Gewebsthromboplastin nicht als erstes Röhrchen entnommen und temperaturgeschützt und vor mechanischen Belastungen geschützt transportiert (180).

Sämtliche Blutentnahmen erfolgten vormittags. Es wurde durchgehend darauf geachtet, dass gemäß Ausschlusskriterien anamnestisch keine Blutungsneigung, hämatologische Grunderkrankungen oder klinische Zeichen einer Thrombozytopenie wie Petechien vorlagen. Falls der therapeutische Ablauf die Erstellung eines Blutbildes vorsah, wurden die erhobenen Daten verwendet.

2.3.2 Plasmapräparation

Aus dem zuvor auf Eppendorf Cups (2 ml Eppendorf Safe-Lock Tubes, Eppendorf AG, Hamburg) aufgeteilten Citratblut wurde mittels Differentialzentrifugation (Biofuge 15 Heraeus, Hanau, Deutschland), über einen Zeitraum von 10 min mit 1000 U/min bei Raumtemperatur PRP für die Durchführung der LTA nach Born präpariert.

Das sich nach Zentrifugation in der oberen Phase befindliche trübe PRP wurde weitestgehend leukozyten- und erythrozytenfrei mit einer Pipette (Variable Pipette Pipetman (20, 200, 1000 µl), früher ABIMED heute Kinesis GmbH, Langenfeld, Deutschland) abgehoben und in ein Polypropylenröhrchen (CELLSTAR® Polypropylenröhrchen 50 ml, 30/115 mm konischer Boden bzw. CELLSTAR® Polypropylenröhrchen 15 ml, 17/120 mm konischer Boden, Greiner Bio-One International GmbH, Frickenhausen, Deutschland) überführt. Dieser Schritt wurde wiederholt um den PRP-Gewinn aus den Blutproben optimal auszuschöpfen. Thrombozytenzahlen der Proben wurden nicht adjustiert (181).

Das restliche Sediment wurde bei 15000 U/min für 5 min zu PAP zentrifugiert, das für die Eichung des Aggregometers auf die Patientenprobe und auch für die spätere Plasmaspiegelbestimmung von Metamizolmetaboliten diente. Das PAP für die Plasmaspiegelbestimmung wurde bei -80°C gelagert, für die TXB₂-Bestimmung bei -20°C.

2.3.3 Prinzip der turbidimetrischen Lichttransmissionsaggregometrie (LTA) nach Born

Bei der Aggregationsmessung nach Born handelt es sich um die photometrische Erfassung der Thrombozytenfunktion in einer PRP-Probe anhand von Lichttransmissionsveränderungen. Nach Stimulation mit einem Thrombozyten-Agonisten (z.B. ARA oder Kollagen) nimmt die Lichttransmission durch Aggregatbildung zu (bzw. die Lichtabsorption ab). Die Zunahme der Lichttransmission beruht dabei auf einer Abnahme der Partikelzahl im Plasma, woraus eine verminderte Streuung des vom Photometer emittierten Lichtstrahls resultiert.

Die gesteigerte Lichttransmission kann kontinuierlich in Abhängigkeit von der Zeit mittels eines Schreibers (Zweikanalflachbrettschreiber: Packard-Zweikanalschreiber „model 621“, Zaventem, Belgien) als Kurve aufgezeichnet werden. Die Steigung der Photometerkurve ist dabei proportional zur Aggregatbildung.

Zur Eichung des Aggregometers (Zweikanalaggregometer: LaborAPACT 4004 Aggregometer, LABiTec® Labor BioMedical Technologies GmbH, Ahrensburg, Deutschland), die für jede Patientenprobe individuell durchgeführt werden muss, dient eine PAP-Probe für 100 % Transmission (maximal mögliche Transmission) und eine PRP-Probe als Referenz für eine Lichttransmission von 0% (minimal mögliche Transmission), dem sogenannten Leerwert.

2.3.4 Prinzip der Aggregationsmessungen in Vollblut mittels Impedanzaggregometrie nach Cardinal und Flower

Durch die 1980 von Cardinal & Flower etablierte Methode der Impedanzaggregometrie wird die Thrombozytenfunktion im Vollblut anhand der Messung des elektrischen Widerstandes in einer Vollblutprobe untersucht. Für die Durchführung wird Vollblut in eine mit zwei Elektroden versehene Messküvette gefüllt und durch Wechselspannung ein Stromfluss zwischen den Elektroden erzeugt. Aufgrund negativer Ladung lagern sich die im Vollblut befindlichen Thrombozyten den Elektroden an, wodurch die Leitfähigkeit reduziert wird und entsprechend der elektrische Widerstand (Impedanz) steigt bis er einen *Steady-State* erreicht. Tritt nach Stimulation mit einem Thrombozytenagonisten eine Aggregation ein, lagern sich die Aggregate den Elektroden an. Der nun resultierende Impedanzanstieg ist

proportional zur Aggregation und kann entsprechend aus der Steigung einer mittels Schreiber aufgezeichneten Kurve abgelesen werden. Die Messungen erfolgten im Vollblut Aggregometer (Chrono-Log *Whole Blood* Aggregometer, Beckmann Coulter, Krefeld, Deutschland). Die Auswertung erfolgt analog der Messung der Tangentensteigung aus der LTA nach Born (s. Kapitel 2.3.6 und Abb. 7).

2.3.5 Durchführung der Aggregationsmessungen

Aggregationsmessungen wurden mit einem Probenvolumen von 500 μ l durchgeführt. Zuvor wurde eine Ruhezeit des PRP von 30 Minuten bei Raumtemperatur eingehalten, um den Einfluss von Scherkräften auf die Thrombozytenaktivierung zu minimieren (182).

Messungen im PRP:

Nach der Eichung des Aggregometers auf die entsprechende Patientenprobe wurden jeweils 400 μ l PRP mit 100 μ l Thrombozytenmedium (TM)-Puffer für die Kontrollmessung bzw. mit 100 μ l wässriger ASS-Lösung die einer Konzentration von 30 μ M und 100 μ M im Ansatz entsprachen, versetzt und für 4 Minuten bei 37°C im Heizblock des Aggregometers ohne Rühren und weitere 2 Minuten unter Durchmischung der Komponenten mittels magnetischem Rührer inkubiert.

Die Stimulation erfolgte mit 1 mM ARA (oder analog 2 μ M Kollagen für die Vorversuche unter Kollagenstimulation) und wurde für 4 Minuten bis zum Stoppen des Ansatzes bei einem Papiervorschub von 2 cm/min aufgezeichnet.

Das Stoppen der Thromboxansynthese erfolgte nach 4 Minuten durch Zugabe von 0,4 mM Indomethazin und 4,5 mM Ethylendiamintetraacetat (EDTA)-Lösung (25). Die Aufbereitung und Verdünnung der aliquotierten ARA erfolgte jeweils frisch aus einer stickstoffgefrorenen Stammlösung (100 mM in Ethanol) durch Aufnahme in 200 μ l Tris-Puffer.

2.3.6 Auswertung der Aggregationskurven

Als Maß für die Thrombozytenreagibilität wurden absolute Tangentensteigung (cm/min) und relative Tangentensteigung bezogen auf die maximale Steigung (%), absolute Amplitude (cm) und relative Amplitude bezogen auf die maximale Amplitude (%) der Aggregationskurven bestimmt. Zur besseren Lesbarkeit und einer

Vereinfachung der Darstellung wird einheitlich nur die Tangentensteigung in cm/min. genannt, da die anderen Parameter vergleichbare Ergebnisse lieferten.

Nach Stimulation der Thrombozyten mit z. B. ARA kommt es zum sogenannten „*shape change*“ (s. Kapitel 1.1. und Abb. 7 oben), der sich als vorübergehende Abnahme der Lichttransmission bemerkbar macht. Der „*shape change*“ geht der Aggregation voraus, bei der die Kurve stark abfällt, bedingt durch die Abnahme der Gesamtpartikelzahl.

Eine komplette Aggregationshemmung wurde definiert, wenn nach der 4-minütigen Aufzeichnungszeit ein „*shape change*“ und Abfall der Aggregationskurve unter die Nulllinie ausblieb (Abb. 7 unten). Sobald die Aggregationskurve unter den Nullpunkt abfiel, wurde dies als vollständige Aggregation gewertet.

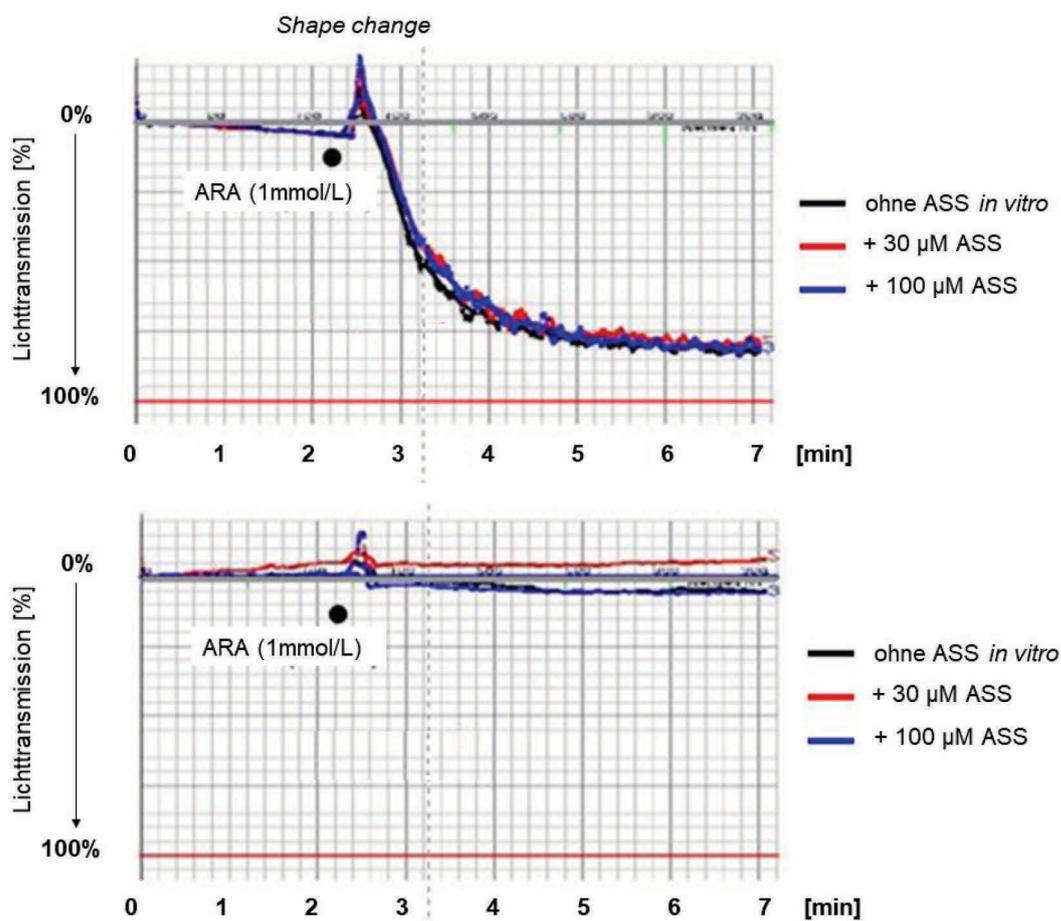


Abb. 7: Originalregistrierung aus dem APACT-Aggregometer zur Demonstration der Kurvenauswertung.

Oben: ASS-Non-Responder aus der Patientengruppe 1 unter Metamizolmedikation. Unten: ASS-Responder aus der Patientengruppe 2 ohne Metamizolmedikation. Während beim ASS-Non-Responder trotz laufender Behandlung mit ASS eine ausgeprägte Aggregation der Thrombozyten erfolgt, findet sich beim ASS-Responder keine Aggregation, was die erwartete vollständige Hemmung der Thrombozytenfunktion durch ASS anzeigt.

Schwarzer Punkt: Zugabe des Stimulus ARA in einer Konzentration von 1 mmol/L. ASS = Acetylsalicylsäure, ARA = Arachidonsäure

2.3.7 Bestimmung der Thromboxansynthese mittels *Radioimmunoassay* (RIA)

Thromboxan wurde in Form seines stabilen Hydrolyseproduktes TXB₂ quantitativ mittels *Radio-Immuno-Assay* (RIA) bestimmt. Dem RIA liegt das Prinzip der kompetitiven Proteinbindungsanalyse zugrunde. Im Assay wird die bisher unbekannte Menge des Analyten (hier TXB₂) mit einer definierten Menge des Analyten entsprechendem radioaktiv markiertem Antigen und einer definierten Menge an spezifischem Antikörper, zu dem beide die gleiche Affinität haben, inkubiert. Analyt und radioaktiv markiertes Antigen konkurrieren um eine begrenzte Anzahl an Bindungsstellen des Antikörpers bis sich, entsprechend der Konzentrationsverhältnisse, ein Gleichgewichtszustand einstellt. In einem bestimmten Trennverfahren wird nun der Überschuss an radioaktiv markiertem Antigen von den entstandenen Antigen-Antikörperkomplexen getrennt. Aus der Radioaktivitätsmessung im Antigen-Antikörper-Gemisch kann dann anhand einer Eichkurve der Analyt quantifiziert werden.

In der vorliegenden Studie wurde nach jeder Aggregationsmessung aus dem Plasma der TXB₂-Gehalt ermittelt. Dazu wurde nach jeder Messung 1 ml PAP bei -20°C lichtgeschützt bis zur Durchführung der Thromboxananalyse gelagert.

Kurz zusammenfassend wurden die PAP Proben auf 1:1000 mit Natriumphosphatpuffer verdünnt.

Zu 750 µl dieser verdünnten PAP-Probe wurden 20 pg mit Tritium radioaktiv-markiertes TXB₂ (³H]TXB₂) (Perkin Elmer, Frakfurt, Deutschland) hinzugefügt. Dann wurde Kaninchen-Antiserum, welches polyklonale Antikörper enthielt, die im eigenen Labor hergestellt wurden (183), in einem Verhältnis von 1:5000 hinzugefügt und für 20 Stunden bei Raumtemperatur damit inkubiert. Die Antigene (das zu messende TXB₂ und ³H]TXB₂) konkurrieren nun um freie Bindungsstellen der Kaninchen-Antikörper und es stellt sich ein Gleichgewicht ein.

Mittels Kohlepräzipitationsverfahren wurde durch Zugabe von 500 µl Kohle-Dextran-500 in einer 25 % zu 2,5 % Suspension freies ³H]TXB₂ von den markierten Antigen-Antikörper-Komplexen getrennt. Die Radioaktivität im so gewonnen Überstand wurde mittels Lumasafe Plus Scintillationszähler (Perkin Elmer, Rodgau, Deutschland) bestimmt und über Eichkurven mit bekannten Standardkonzentrationen anhand der gemessenen Radioaktivität die TXB₂-Konzentration in der Probe ermittelt. Die Nachweisgrenze lag bei 0,04 ng/ml.

2.3.8 Plasmaspiegelbestimmung der Metamizolmetaboliten mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (*High Performance Liquid Chromatography* (HPLC))

Zur Plasmaspiegelbestimmung der Metamizolmetabolite wurde das Verfahren der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (*High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)) angewandt. Die HPLC ist eine säulenchromatographische Methode zur qualitativen und quantitativen Analyse eines Stoffgemisches. Das zu analysierende Gemisch wird dazu von einer mobilen Phase, dem sogenannten „Eluenten“, aufgenommen und durchfließt dann eine Säule, die die sogenannte stationäre Phase enthält, welche eine dem Eluenten entgegengesetzte Polarität aufweist und somit mit ihm in Wechselwirkung gerät.

Die nach Polarität aufgetrennten Probenbestandteile durchfließen demnach unterschiedlich schnell und in unterschiedlich hoher Konzentration die stationäre Phase, so dass sie bei der UV-Detektion als charakteristische Ausschläge, die sogenannten „*Peaks*“, erscheinen, welche durch Vergleich mit Eichkurven bestimmten Stoffen und Konzentrationen zugeordnet werden können.

Aus den für die Plasmaspiegelmessung bei -20°C tiefgefroren gelagerten PAP-Proben wurden die Plasmaspiegel der Metamizolmetaboliten MAA, AA und AAA mittels Umkehrphasen-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (*Reverse Phase-High Performance Liquid Chromatography* (RP-HPLC)) mit UV-Detektion gemessen und quantifiziert.

Als stationäre Phase diente eine C18-Säule (Nucleodur EC 125/4, C18 Pyramid (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren, Deutschland) mit einer Länge von 125 mm und einem Durchmesser von 4 mm, sowie einer Porengröße von 3 μM .

Als mobile Phase wurde ein polarer Eluent mit einer Zusammensetzung aus 87 % Natriumacetat und 13 % Acetonitril gewählt, der mittels Essigsäure-Titration auf einen pH-Wert von 5,6 eingestellt wurde. Die Versuche fanden unter isokratischer Elution, d.h. ohne Ansatz eines Gradienten in der mobilen Phase statt. Die HPLC-Pumpe (Hitachi L-6200 Intelligent Gradient Pump, Merck Hitachi, Darmstadt, Deutschland) wurde auf eine Flussrate von 0,5 ml/min eingestellt bei einem maximalen Druck von 200 Bar. Vor der Durchführung der Analyse wurde das PAP durch Filtration von Proteinen und der Eluent durch *Helium-purge*-Methode von löslichen Gasen befreit (Proteinfilter: Nanosep 3K Omega, Trenngrenze MWCO 3K (Pall, Dreieich, Deutschland)).

Die 100 µl der proteinfreien PAP-Proben wurden mittels Spritze (Injektionsspritze Typ 1710, Hamilton Messtechnik GmbH, Höchst, Deutschland) manuell in den Eluenten injiziert und die mittels UV-Detektor (Merck LaChrom Elite UV-VIS Detektor L7420, Merck Hitachi, Darmstadt, Deutschland) mit einer Wellenlänge von 257 nm detektierten *Peaks* über die Zeit hinweg aufgezeichnet.

Auswertung der Chromatogramme:

Der Zeitpunkt, zu dem ein *Peak* sein Maximum erreicht, wird Retentionszeit genannt und ist für den jeweiligen Stoff charakteristisch. Er wird auf der X-Achse abgelesen und dient der Stoffidentifizierung. Die Fläche unter dem *Peak* (sog. „*Area under the curve*“ (AUC)) ist proportional zur Stoffkonzentration, welche hieraus mittels Computerprogramm bei bekannter unterer Quantifizierungsmenge (*lower limit of quantification*, LLOQ) errechnet werden kann.

Für die Berechnung der Konzentrationen von Metamizolmetaboliten wurde die mittels Softwareprogramm CHROMuLAN v.0.79 (Freeware, PiKRON Ltd., Website: <http://chromatography.sharewarejunction.com/freeware.html>) ermittelte *Area under the curve* (AUC) mit zuvor durchgeführten *Peaks* aus Eichreihen verschiedener Konzentrationen an Metabolit unter Verwendung des Programmes Microsoft Office Excel (Version 2003) verrechnet.

Die gemittelten Retentionszeiten lagen für AAA bei 6,38 Min., FAA bei 6,61 min, Metamizol als Reinsubstanz bei 7,01 min, AA bei 17,04 min, MAA bei 22,32 min.

2.4 Reagenzien

Substanzen und Bezugsquellen:

- Aktivkohle (Fluka Chemika, St. Gallen, Schweiz (heute Honeywell, Seelze, Deutschland))
- *Albumin bovine* (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland)
- ARA (20:4, n-6) (NatuTec GmbH, Frankfurt, Deutschland)
- Aspirin i.v.® 500 mg, D,L-Lysinacetylsalicylat (Bayer AG, Leverkusen, Deutschland)
- Aqua destilatum (Milli-Q) (Millipore-Anlage, Institut für klinische Pharmakologie HHU Düsseldorf)
- *Dimethyl-Sulfoxid* (DMSO) (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland)
- Ethanol (Merck, Darmstadt, Deutschland)

- Ethylendiamintetraacetat (EDTA) (Titriplex® III-Lösung, Merck, Darmstadt, Deutschland)
- Citronensäure
- Dextran 500 (Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg, Deutschland)
- Glukose (D(+)-Glucose-Monohydrat) (Merck, Darmstadt, Deutschland)
- HEPES (*N*-(2-Hydroxyethyl)Piperazin-*N'*-(2-ethansulfonsäure)) (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland)
- Indomethazin (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland)
- Kaliumchlorid (Merck, Darmstadt, Deutschland)
- Kollagen (Horm Kollagen, Nycomed GmbH, München, Deutschland)
- MAA-Stammlösung in DMSO (Prof. Dr. H. Weber, Institut für Pharmazeutische Chemie, HHU Düsseldorf)
- Magnesiumchlorid (MgCl₂) (Merck, Darmstadt, Deutschland)
- Natriumchlorid (NaCl) (Merck, Darmstadt, Deutschland)
- Natriumhydrogencarbonat (NaHCO₃) (Merck, Darmstadt, Deutschland)
- Natriumhydrogenphosphat (NaH₂PO₄) (Merck, Darmstadt, Deutschland)
- Natriumhydroxid (NaOH) (Merck, Darmstadt, Deutschland)
- Prostaglandin E₁ (PGE₁) (Cayman Chemical Company, Michigan, USA)
- Trisodium Citrat (Natriumsalz der Citronensäure) (Na₃C₆H₅O₇) (Merck, Darmstadt, Deutschland)
- Tris-HCl (Roth, Karlsruhe, Deutschland) (TRIS = Tris(hydroxymethyl)aminomethan), HCl (Salzsäure)
- laboreigener spezifischer Antikörper (Gamma-Immunglobulin (IgG), polyklonaler Kaninchen-Antikörper, hergestellt nach Schrör und Seidel, 1988)
- [³H] TXB₂ (radioaktiver Tracer), Gesamtradioaktivität: 11,84 kBq; (Amersham Bioscience, Freiburg, Deutschland)

Hergestellte Puffer und Lösungen:

ACD:

- 74,8 mM Trinatriumcitrat
- 65 mM Citronensäure x H₂O
- 111 mM Glucose x H₂O ad 100 ml aqua dest.

Alkoholische Natronlauge:

- 100 mM NaOH in Ethanol

ARA:

- Stammlösung: 100 mM in Ethanol

- Gebrauchslösung: 100 µl Stammlösung + 300 µl alkoholische Natronlauge (NaOH)
- Getrocknet unter N₂ und lichtgeschützt gelagert bei -20°C
- An jedem Versuchstag neu gelöst in 200 µl Tris-Puffer (50 mM, pH 7,4)

ASS-Stammlösung:

- 0,5 g D,L-Lysinacetylsalicylat in 1 g Aspirin i.v. ®
- 5 mM Stammlösung: 3,6 mg Aspirin i.v. + 2 ml TM-Puffer
- Verdünnungsfaktor (1:5) 100 µl Stammlösung in 500 µl Küvettenvolumen (z.B. 100 µl Stammlösung + 400 µl PRP)
- Endkonzentrationen im Ansatz: 10 µM, 30 µM, 3 µM, 1 µM

MAA -Stammlösung:

- 10 mM MAA-Stammlösung in DMSO
- Verdünnungsfaktor (1:100) 5 µl Stammlösung in 500 µl Küvettenvolumen (z.B. 100 µl Stammlösung + 400 µl PRP)
- Endkonzentrationen im Ansatz: 100 µM, 30 µM, 10 µM, 3 µM, 0,3 µM

EDTA-Lösung:

- 77,0 mM EDTA

Indomethazinlösung:

- 50,0 mM gelöst in Ethanol

Natrium-Phosphat-Puffer:

- Kaliumdihydrogenphosphat mit Aqua dest. auf 1000 ml auffüllen
- Dinatriumhydrogenphosphat-Dihydrat (Na₂HPO₄ x 2H₂O) mit Aqua dest. Auf 1000 ml auffüllen
- 81,8 ml wässrige KH₂PO₄ + 18,2 ml wässrige Na₃HPO₄ ergeben 100 ml eines Natrium-Phosphat-Puffer mit einem pH von 7,4

Thrombozytenmedium/TM/TM-Puffer:

- 134 mM NaCl
- 12 mM NaHCO₃
- 2,9 mM KCl
- 0,36 mM NaH₂PO₄ x 2H₂O
- 1 mM MgCl₂ x 6H₂O
- 5 mM HEPES; pH 7,4

Tris-Puffer:

- 50 mM Tris-HCl; pH 7,4

2.5 Statistik

Die statistische Auswertung wurde mit Hilfe des Programmes SPSS Version 18.0 (IBM) und SigmaPlot Version 11.0 (Systat Software GmbH) durchgeführt.

Zur Prüfung auf Normalverteilung wurden Histogramme angefertigt und der Kolmogorov-Smirnov-Test angewendet und dieser ggf. durch den Shapiro-Wilk-Test untermauert. Als Signifikanzniveau wurde $\alpha = 0,05$ festgelegt und entsprechend bei einem p-Wert von $< 0,05$ eine Normalverteilung ausgeschlossen.

Häufigkeiten intervallskalierten Variablen wurden als Mittelwerte \pm Standardfehler (*standard error of the mean* (SEM)) angegeben um eine Beeinflussung der Werte durch Unterschiede in der Stichprobengröße auszuschließen. Die in den Abbildungen dargestellten Fehlerbalken geben den Standardfehler der Mittelwerte an. Lag keine Normalverteilung vor, wurden der Median und die *Range* (Extremwerte) angegeben.

Gruppenvergleiche von intervallskalierten, normal verteilten Merkmalen wurden mit Hilfe des T-Tests für unabhängige Stichproben für Mittelwertvergleiche durchgeführt. Wurde ein gerichteter Unterschied erwartet, wurde der als zweiseitig angegebene p-Wert halbiert. Die Varianzhomogenität wurde durch den Levene-Test untermauert.

Für Gruppenvergleiche nicht normal verteilter Variablen wurde als nicht-parametrischer Test der Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Wurden mehr als zwei Gruppen verglichen, wurde bei fehlender Normalverteilung als nicht parameterischer Test der Kruskal-Wallis Test verwendet. Bei erforderlicher Fehlerkorrektur wurde als Post-Hoc-Test der Dunn-Bonferroni-Test angewendet.

Für den Vergleich von nominalskalierten Variablen wurden Kreuztabellen angefertigt und der χ^2 -Test durchgeführt (bei Häufigkeiten pro Zeile > 5) und gegebenenfalls durch den exakten Test nach Fisher erweitert (wenn kleine Stichproben $n < 30$, Häufigkeiten < 5).

Gruppenunterschiede wurden bei einem p-Wert $< 0,05$ als statistisch signifikant gewertet und in Abbildungen mit * markiert. Bei einem Signifikanzniveau von $p < 0,01$ wurde dies in den Abbildungen mit ** gekennzeichnet und entsprechend für $p < 0,001$ mit ***. Es wurde ein Konfidenzintervall von 95 % festgesetzt. Signifikanztests

wurden bei gerichteten Hypothesen einseitig, bei ungerichteten Hypothesen zweiseitig durchgeführt.

3 Ergebnisse

Die Zusammenstellung der Ergebnisse umfasst zunächst die mit Blut gesunder Probanden durchgeführten Untersuchungen (Vorversuche) und nachfolgend die Ergebnisse der Beobachtungsstudie an Blutproben von Patienten.

3.1 Vorversuche mit Thrombozyten gesunder Probanden

In Vorversuchen wurde zunächst die Bedeutung der Interaktion des Metamizolmetaboliten MAA mit ASS für die Thrombozytenaggregation untersucht. Insgesamt wurden 27 Messreihen durchgeführt. Die Messungen wurden vorwiegend in PRP (n = 24) (s. Kapitel 2.3.3. und 2.3.5.), aber auch in Vollblut (n = 3) (s. Kapitel 2.3.4. und Kapitel 2.3.5.) durchgeführt. Als Stimulus wurde vorwiegend ARA (n = 22) eingesetzt. Fünf Messreihen wurden mit Kollagen als Stimulus durchgeführt. Bei Messreihen an Vollblut wurde ausschließlich mit ARA stimuliert.

Darüber hinaus wurden zeitkinetische Untersuchungen der Thrombozytenhemmung durch ASS in An- und Abwesenheit von MAA durchgeführt.

Die Quantifizierung der Thrombozytenaktivierung erfolgte anhand der Aggregationsreaktion (Steigung der Aggregometerkurve) (s. Kapitel 2.3.6.) und mittels Bestimmung des Thromboxanmetaboliten TXB₂ (mittels RIA) (s. Kapitel 2.3.7.).

3.1.1 Arachidonsäure-induzierte Thrombozytenaggregation

Zur Durchführung der Aggregationsmessungen wurde aus den Blutproben PRP präpariert (s. Kapitel 2.3.2) und mit ASS in aufsteigender Konzentration (1 - 300 µM), jeweils mit und ohne Zusatz von MAA (0,3 – 30 µM), versetzt (s. Kapitel 2.3.5.)

ARA (1 mM) induzierte bei allen PRP Proben eine Aggregationsreaktion und war von einer hohen Thromboxansynthese begleitet ($3017,5 \pm 729,7$ ng/ml). ASS hemmte erwartungsgemäß konzentrationsabhängig die Aggregation und Thromboxansynthese gesunder Probanden (s. Abb. 8 und 9, für Kollagenstimulation graphisch nicht gezeigt). Bei Anwesenheit von ASS in Konzentrationen von 100 und 300 µM stieg die Aggregometerkurve bei allen Proben nicht über den Nullpunkt

hinaus, d. h. die Thrombozytenaggregation war vollständig gehemmt. ASS in einer Konzentration von 10 μM führte zu keiner statistisch signifikanten Hemmung der Aggregation, ab einer Konzentration von 30 μM zeigte sich ein signifikanter Effekt auf die Aggregation (s. Abb. 8).

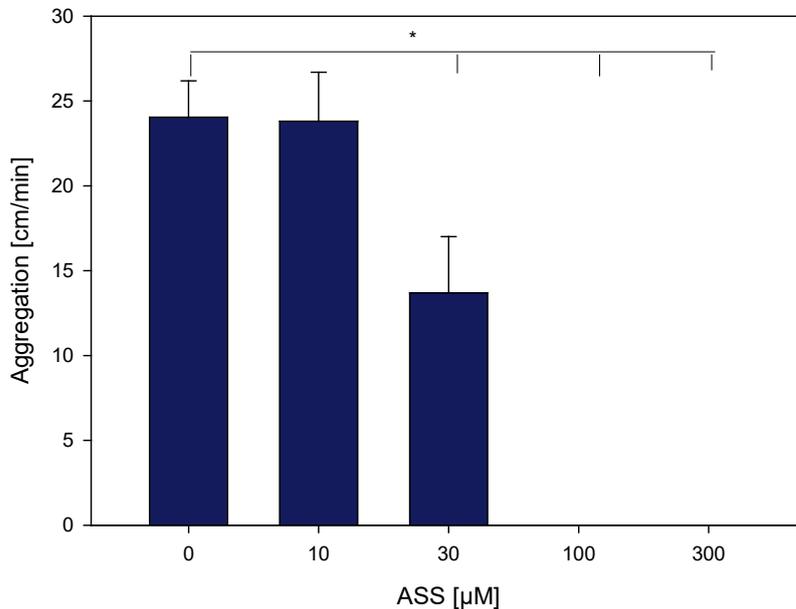


Abb 8.: Effekt von ASS auf die arachidonsäureinduzierte Plättchenaggregation.

Mittlere Aggregation gemessen als Tangentensteigung in cm/min in der LTA nach Born in PRP-Proben gesunder Probanden nach Zugabe von ASS (0 - 300 μM). Stimulation mit 1 mM ARA. Jede Säule entspricht 9 - 11 unabhängigen Messungen. *) $p < 0,05$. ASS = Acetylsalicylsäure, ARA = Arachidonsäure, LTA = Lichttransmissionsaggregometrie, PRP = plättchenreiches Plasma

3.1.1.1 Einfluss von ASS auf die Thrombozytenaggregation und Thromboxansynthese

Ähnlich der Aggregation war die Hemmung der Thromboxansynthese durch ASS in Konzentrationen von 100 μM und darüber nahezu vollständig. ASS in Konzentrationen von 30 μM und darunter bewirkte keine statistisch signifikante Hemmung der Thromboxansynthese (s. Abb. 9).

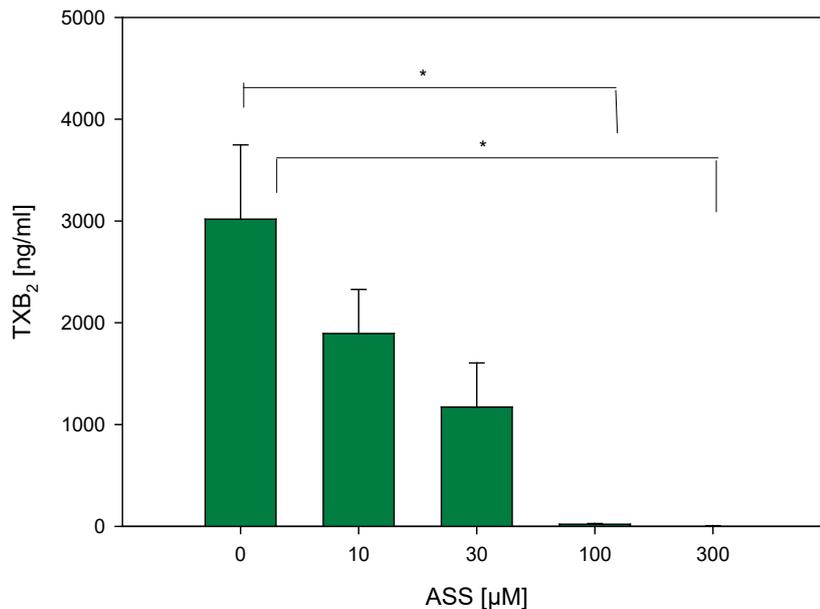


Abb. 9: Effekt von ASS auf die arachidonsäureinduzierte thrombozytäre Thromboxansynthese.

Mittlere TXB₂-Konzentrationen nach PRP-Stimulation gemessen im RIA in ng/ml nach Zugabe von ASS (0 - 300 μM). Stimulation mit 1mM ARA. Jede Säule entspricht 9 - 11 unabhängigen Messungen. *) p < 0,05. ASS = Acetylsalicylsäure, ARA = Arachidonsäure, RIA = *Radioimmunoassay*, TXB₂ = Thromboxan B₂

3.1.1.2 Einfluss von 4-Methylaminoantipyrin (MAA) auf die Thrombozytenaggregation und Thromboxansynthese

Auch der Einfluss von MAA auf die Aggregation und Thromboxansynthese wurde untersucht. MAA bewirkte keine statistisch signifikante Hemmung von Aggregation und Thromboxansynthese. Nur in den höchsten eingesetzten Konzentrationen (10 und 30 μM) führte MAA zu einem allenfalls moderaten inhibierenden Effekt auf die Aggregation, nicht jedoch auf die Thromboxansynthese. So war die mittlere Steigung unter 10 μM MAA auf $73,6 \pm 7,3$ % und unter 30 μM MAA auf $84,8 \pm 12,8$ % im Vergleich zur Messung ohne MAA reduziert. Dies war jedoch statistisch nicht signifikant (p = 0,584 für 10 μM MAA, p = 0,485 für 30 μM MAA, graphisch nicht gezeigt).

3.1.1.3 Interaktion von 4-Methylaminoantipyrin (MAA) mit ASS in Bezug auf Thrombozytenaggregation und Thromboxansynthese

In weiteren Versuchsansätzen wurde der Einfluss von ASS (1 – 300 μM) allein auf die Thrombozytenfunktion sowie ASS in diesen Konzentrationen in Gegenwart von MAA (0,3 - 30 μM) untersucht. Eine zusätzliche Inkubation mit MAA in den Konzentrationen 0,3 und 1 μM schwächte die durch ASS (30 - 300 μM) hervorgerufene Hemmung der Thrombozytenaggregation ab (nicht gezeigt). In hoher Konzentration (30 μM) hob MAA die Hemmung durch 100 μM ASS nahezu vollständig auf (s. Abb. 10).

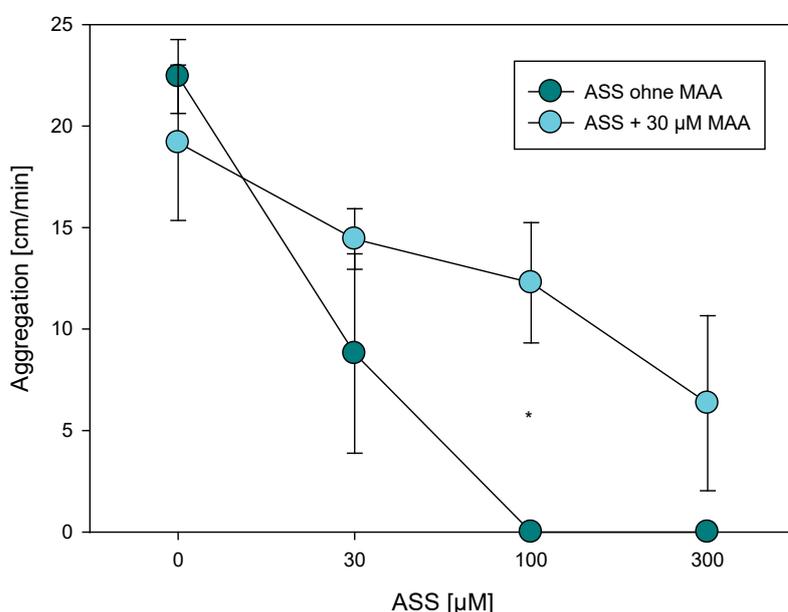


Abb. 10: Effekt von 30 μM MAA auf die Hemmung der arachidonsäureinduzierten Aggregation durch ASS.

Mittlere Aggregation gemessen als Tangentensteigung in cm/min in der LTA nach Born in PRP-Proben gesunder Probanden nach Inkubation mit ASS allein (petrol) und nach Inkubation mit ASS und 30 μM MAA (türkis). Stimulation mit 1mM ARA. Jeder Punkt entspricht 3 unabhängigen Messungen. *) $p < 0,05$. ASS = Acetylsalicylsäure, ARA = Arachidonsäure, LTA = Lichttransmissionsaggregometrie, MAA = 4-Methylaminoantipyrin, PRP = plättchenreiches Plasma

Abbildung 11 zeigt die Ergebnisse eines Experiments, bei welchem die Konzentrationsabhängigkeiten der Interaktion von ASS mit MAA untersucht wurden. Dargestellt sind Originalregistrierungen der Interaktion von MAA (0 – 30 μM) mit der Hemmung der Thrombozytenaggregation durch ASS in Konzentrationen von 30 und 100 μM . Die Thrombozytenhemmung durch 30 μM ASS wurde durch MAA in Konzentrationen zwischen 1 und 30 μM vollständig aufgehoben (s. Abb. 11 oben).

Die Thrombozytenhemmung durch 100 μM ASS wurde durch MAA erst in hoher Konzentration (30 μM) aufgehoben (s. Abb. 11 unten).

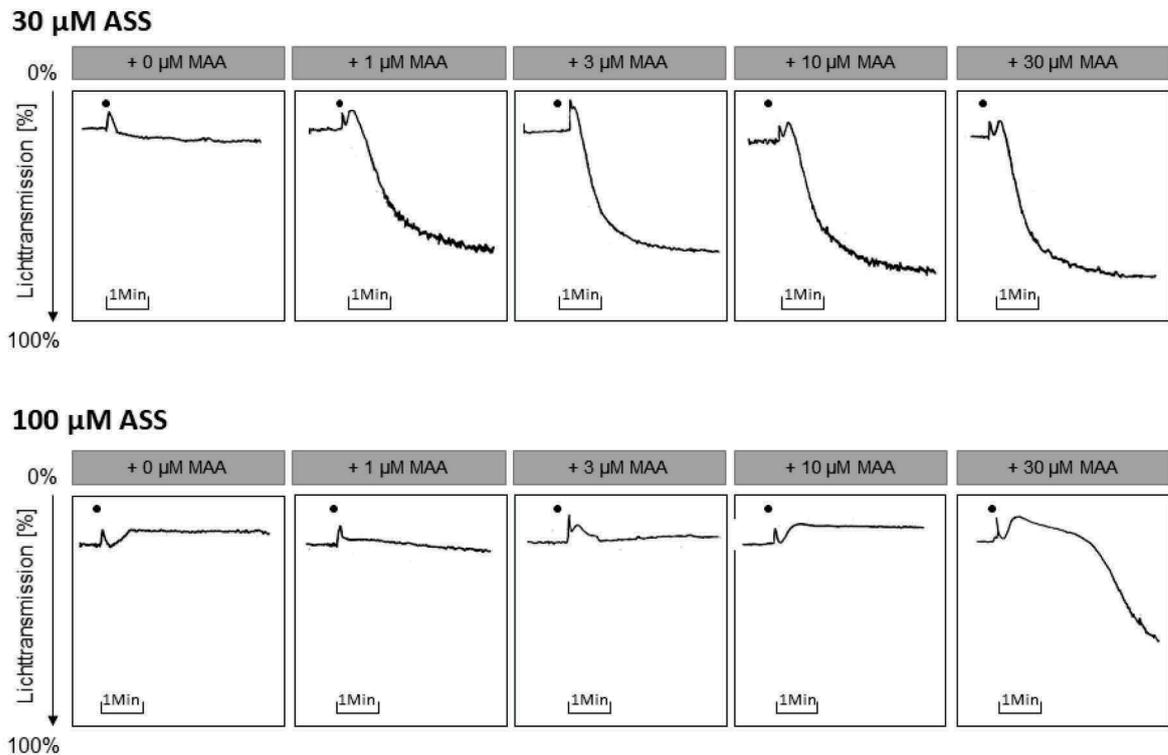


Abb. 11: Effekt verschiedener Konzentrationen von MAA auf die Aggregationshemmung durch ASS.

Originalaufzeichnungen der Aggregationskurven der LTA nach Born in PRP-Proben eines gesunden Probanden nach Inkubation mit 30 μM ASS und MAA in aufsteigender Konzentration (Reihe 1) und 100 μM ASS und MAA in aufsteigender Konzentration (Reihe 2). Schwarzer Punkt: Stimulation mit 1 mM ARA. Die Aggregation wurde 4 Minuten lang aufgezeichnet. ASS = Acetylsalicylsäure, ARA = Arachidonsäure, MAA = 4-Methylaminoantipyrin, LTA = Lichttransmissionsaggregometrie, PRP = plättchenreiches Plasma

Abbildung 12 stellt den Einfluss von MAA (30 μM) auf die Thromboxansynthesehemmung durch ASS dar. Auch wenn das Ergebnis wegen hoher Variabilität der Messwerte keine statistische Signifikanz erreichte, wird erkennbar, dass unter 100 und 300 μM ASS allein die Thromboxansynthese weitgehend gehemmt ist (TXB₂ so niedrig, dass Balken nicht mehr darstellbar), wohingegen in Anwesenheit von 30 μM MAA TXB₂ in Konzentrationen von ca. 969,2 \pm 819,3 bzw. 481,6 \pm 391,8 ng/ml nachzuweisen ist (s. Abb 12 türkisfarbene Balken).

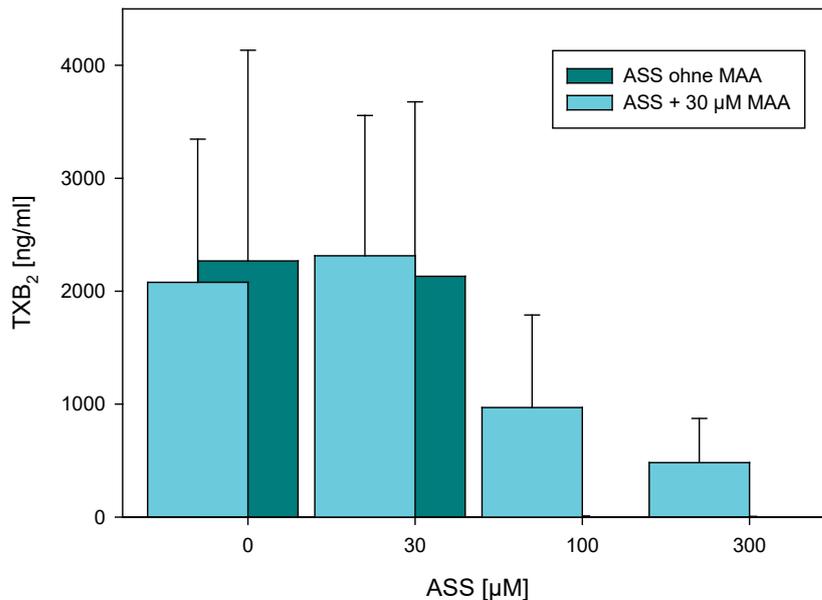


Abb. 12: Effekt von 30 µM MAA auf die Thromboxansynthesehemmung verschiedener Konzentrationen von ASS.

Mittlere TXB₂-Konzentrationen nach PRP-Stimulation gemessen im RIA in ng/ml nach Inkubation mit ASS allein (petrol) und nach Inkubation mit ASS und 30 µM MAA (türkis). Stimulation mit 1 mM ARA. Jede Säule entspricht 3 unabhängigen Messreihen. ASS = Acetylsalicylsäure, ARA = Arachidonsäure, MAA = 4-Methylaminoantipyrin, PRP = plättchenreiches Plasma, RIA = *Radioimmunoassay*, TXB₂ = Thromboxan B₂

3.1.2 Kollageninduzierte Thrombozytenaggregation

Der Versuchansatz zur Darstellung der Arzneimittelinteraktion in mit ARA stimuliertem PRP wurde auch mit Kollagen als Thrombozytenagonisten durchgeführt. Hierbei erwies sich eine Konzentration von 2 µM Kollagen als vergleichbarer Stimulus zu 1 mM ARA, der bei allen Probanden eine Aggregation induzierte. Es zeigte sich jedoch eine deutlich niedrigere Thromboxansynthese ($71,1 \pm 39,3$ ng/ml). TXB₂ konnte auch durch ASS in der niedrigsten Konzentration, die die Aggregation in der LTA vollständig unterband, noch weiter supprimiert werden, auf Konzentrationen von maximal 1,5 ng/ml bis zu nicht mehr nachweisbaren Werten. Auch unter Kollagenstimulation war eine Interaktion zwischen MAA und ASS zu beobachten.

Unter alleiniger Inkubation mit MAA zeigte sich, wie auch unter ARA-Stimulation, dass MAA in hohen Konzentrationen (10 µM, 30 µM) die Aggregation hemmte, jedoch ohne statistische Signifikanz zu erreichen (nicht gezeigt). Bezogen auf die TXB₂-Konzentrationen bewirkte die Zugabe von 30 µM MAA (ohne ASS) eine statistisch signifikante Suppression der TXB₂-Synthese auf 11,7 % des Wertes ohne Zugabe von MAA oder ASS (($p = 0,029^*$), Abb. 13). Dies unterschied sich von den

Ergebnissen nach ARA-Stimulation, wo sich keine statistisch signifikante Suppression von TXB₂ durch MAA zeigte (p = 0,937, graphisch nicht gezeigt). Niedrige Konzentrationen von MAA (0,3 µM, 1 µM) hatten wie auch unter ARA-Stimulation keinen Einfluss auf die Thrombozytenaggregation oder Thromboxansynthese.

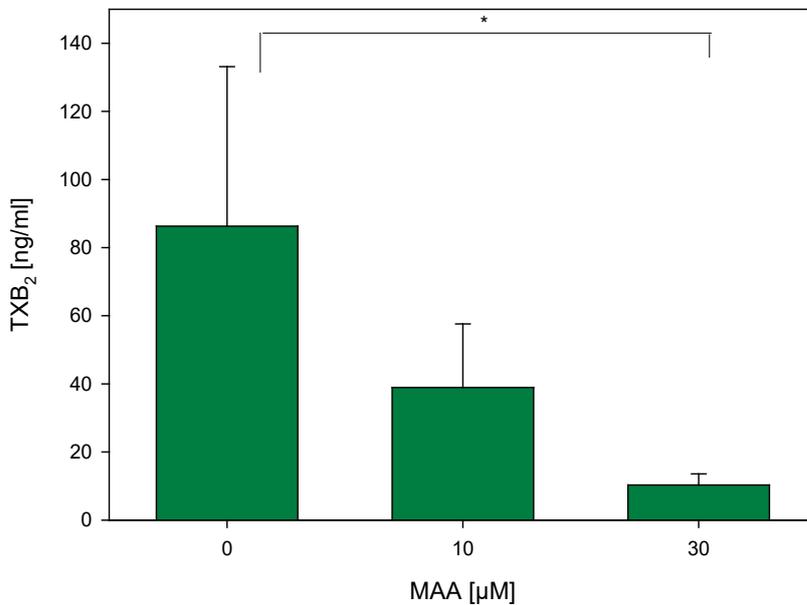


Abb. 13: Effekt von MAA (10 µM und 30 µM) auf die kollageninduzierte Thromboxansynthese.

Mittlere TXB₂-Konzentrationen nach PRP-Stimulation gemessen im RIA in ng/ml nach Inkubation ohne MAA (links), mit 10 µM MAA (Mitte) und 30 µM MAA (rechts). Stimulation mit 2 µM Kollagen. Jede Säule entspricht 4 unabhängigen Messungen. *) p < 0,05. MAA = 4-Methylaminoantipyrin, TXB₂ = Thromboxan B₂.

Bereits niedrige Konzentrationen von MAA (0,3 µM, 1 µM) beeinflussten jedoch die Aggregationshemmung durch ASS, wenn auch nicht signifikant (graphisch nicht gezeigt). Wurde MAA in Konzentrationen von 3 und 10 µM eingesetzt, war die thrombozytäre Hemmung der Aggregation durch ASS (niedrigste antithrombozytäre probandenabhängige Konzentration) gänzlich aufgehoben, analog zur Stimulation mit ARA (Abb. 11 obere Zeile). Hohe Konzentrationen MAA (30 µM) allein bewirkten eine nicht signifikante Hemmung der Aggregation (Abb. 14). Dies galt auch für die Thromboxansynthese (Abb. 13 für Stimulation mit Kollagen).

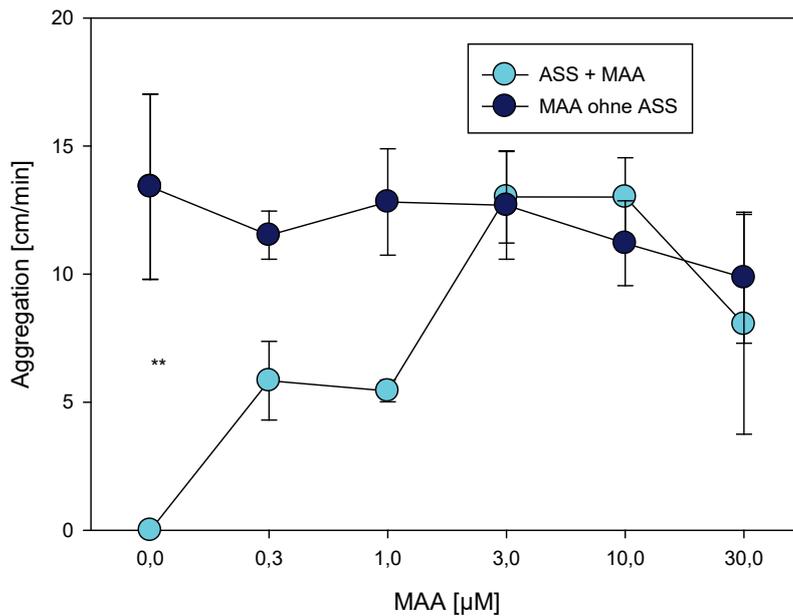


Abb. 14: Effekt verschiedener Konzentrationen von MAA auf die kollageninduzierte Plättchenaggregation und auf die Aggregationshemmung durch ASS.

Messungen erfolgten im plättchenreichen Plasma gesunder Probanden in An- (türkis) und Abwesenheit von ASS (dunkelblau). Stimulation mit $2 \mu\text{M}$ Kollagen. Jeder Punkt entspricht 4 unabhängigen Messungen. Die ASS-Konzentration entspricht der niedrigsten getesteten Konzentration, die noch eine vollständige Aggregationshemmung bewirkte und variierte probandenabhängig (s. Kapitel 2.1.1.). **) $p < 0,01$. ASS = Acetylsalicylsäure, MAA = 4-Methylaminoantipyrin

3.1.3 Zeitkinetische Untersuchungen zur Interaktion von 4-Methylaminoantipyrin (MAA) mit ASS

Der zeitliche Verlauf der Arzneimittelinteraktion wurde jeweils im PRP von 4 gesunden Probanden und im Vollblut von 3 gesunden Probanden untersucht und ist in Abbildung 15 und 17 bezüglich der Aggregation und Abbildung 16 und 18 bezüglich der Thromboxansynthese graphisch dargestellt.

3.1.3.1 Zeitkinetische Untersuchungen im plättchenreichen Plasma (PRP)

Unter Inkubation mit $30 \mu\text{M}$ ASS nahm die Aggregation nach ARA-Stimulation des PRP von 100 % (Kontrolle vor Zugabe von ASS) nach 15 Minuten auf $13,9 \pm 6,9$ % ab. Nach 30-minütiger Inkubation war bei allen Probanden eine Thrombozytenaggregation durch 1 mM ARA nicht mehr induzierbar. Die entsprechenden TXB_2 -Konzentrationen lagen nach 15 Minuten bei $165,9 \pm 34,0$ ng/ml, was einer Reduktion des Ausgangswertes auf $6,4 \pm 1,8$ % entspricht. Nach 30

Minuten war die TXB₂-Konzentration auf unter 15 ng/ml abgefallen ($12,7 \pm 1,5$ ng/ml), was einer Reduktion auf weniger als 1 % entspricht.

In Anwesenheit von 10 μ M MAA und 30 μ M ASS lagen Aggregation und Thromboxansynthese bereits nach 15 Minuten signifikant höher als in Gegenwart von 30 μ M ASS allein ($p < 0,001$ für die Aggregation, $p < 0,05$ für die Thromboxansynthese). So war in Anwesenheit von 10 μ M MAA und 30 μ M ASS die Aggregation auch nach 60 Minuten auf nur im Mittel $30,8 \pm 12,0$ % des Kontrollwertes reduziert, wohingegen im Ansatz mit 30 μ M ASS ohne MAA die mittlere Aggregation bereits nach 15 Minuten auf $13,9 \pm 6,9$ % des Ausgangswertes abgefallen war und bereits nach 30 Minuten in diesem Ansatz bei allen Probanden keine Aggregation mehr nachweisbar war (s. Abb. 15 und Abb. 16).

Die alleinige Zugabe von 10 μ M MAA hatte verglichen mit der Kontrollmessung ohne MAA und ASS keinen signifikanten Einfluss auf die Thrombozytenfunktion (graphisch nicht gezeigt).

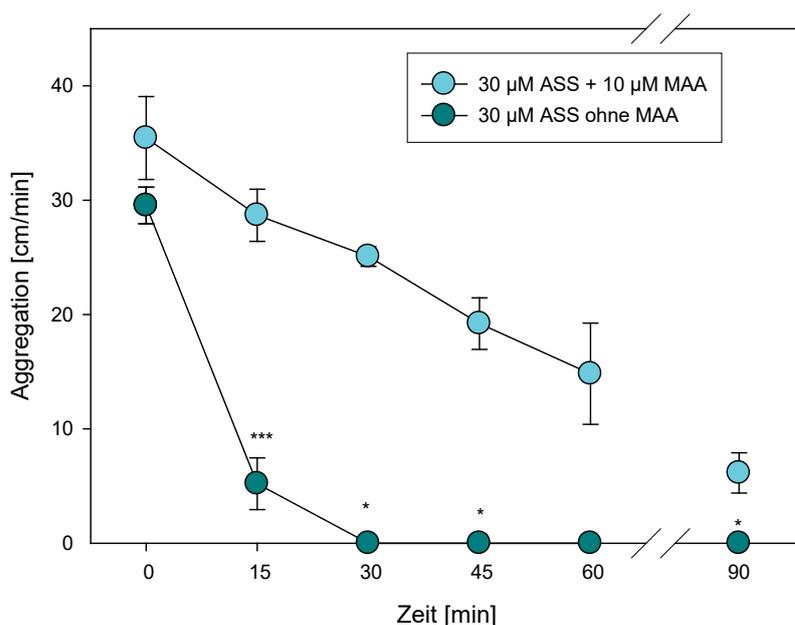


Abb. 15: Effekt von 10 μ M MAA auf die zeitabhängige Hemmung der PRP-Aggregation durch 30 μ M ASS.

Mittlere Aggregation gemessen als Tangentensteigung in cm/min in der LTA nach Born in PRP-Proben gesunder Probanden nach Inkubation mit 30 μ M ASS allein (petrol) und nach Inkubation mit 30 μ M ASS und 10 μ M MAA (türkis). Stimulation mit 1 mM ARA. Jeder Punkt entspricht 4 unabhängigen Messungen. Nach 75 Minuten erfolgte keine Messung (dargestellt als Achsenbruch). (***) $p < 0,001$. *) $p < 0,05$. ASS = Acetylsalicylsäure, ARA = Arachidonsäure, LTA = Lichttransmissionsaggregometrie, MAA = 4-Methylaminoantipyrin, PRP = plättchenreiches Plasma

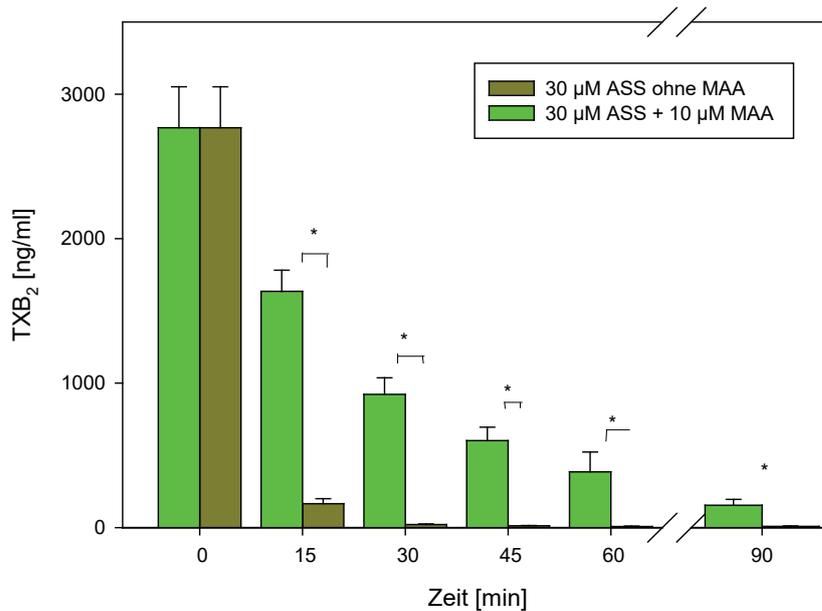


Abb. 16: Effekt von 10 µM MAA auf die zeitabhängige Hemmung der Thromboxansynthese in stimuliertem PRP durch 30 µM ASS.

Mittlere TXB₂-Konzentrationen nach PRP-Stimulation gemessen im RIA in ng/ml zu verschiedenen Zeiten nach Inkubation mit ASS allein (khaki) und nach Inkubation mit ASS und MAA (grün). Stimulation mit 1 mM ARA. Jede Säule entspricht 4 unabhängigen Messungen. Nach 75 Minuten erfolgte keine Messung (dargestellt als Achsenbruch). *) p < 0,05. ARA = Arachidonsäure, ASS = Acetylsalicylsäure, MAA = 4-Methylaminoantipyrin, PRP = plättchenreiches Plasma, RIA = Radioimmunoassay, TXB₂ = Thromboxan B₂

3.1.3.2 Zeitkinetische Untersuchungen im Vollblut

Nach ARA-Stimulation der Vollblutprobe ohne Zusatz von ASS oder MAA synthetisierten die Thrombozyten TXB₂ in einer Konzentration von 2024 ± 49 ng/ml. Durch Inkubation mit 5 µM ASS reduzierte sich die thrombozytäre TXB₂ – Synthese mit zunehmender Einwirkdauer. Nach 30 Minuten betrug die Thromboxankonzentration 10,7 ± 8,0 % des Ausgangswertes, nach 90 Minuten nur noch 2,0 ± 1,5 % des Ausgangswertes (s. Abb. 18).

Entsprechend nahm die Aggregation nach 30 Minuten im Vergleich zum Ausgangswert zum Zeitpunkt 0 (Kontrollmessung ohne ASS-Zugabe) auf 23,9 ± 13,0 % und nach 90 Minuten auf 13,2 ± 13,2 % ab (s. Abb. 17). Wurde dieselbe Messung im Ansatz mit 10 µM MAA durchgeführt, nahmen zwar auch hier Steigung und Thromboxansynthese über die Zeit hinweg ab, dies geschah jedoch in signifikant geringerem Maße als bei alleiniger Zugabe von ASS. Bereits nach 45 Minuten lag die Thromboxankonzentration im Ansatz mit 10 µM MAA signifikant über der für alleinige Inkubation mit ASS (p < 0,01).

Nach 90-minütiger Inkubation mit 5 μM ASS und 10 μM MAA betragen die gemessenen TXB_2 -Werte im Vollblut immer noch $70,2 \pm 17,1 \%$ des Ausgangswertes.

Die alleinige Zugabe von 10 μM MAA hatte verglichen mit der Kontrollmessung ohne MAA und ASS keinen signifikanten Einfluss auf die Thrombozytenfunktion (graphisch nicht gezeigt).

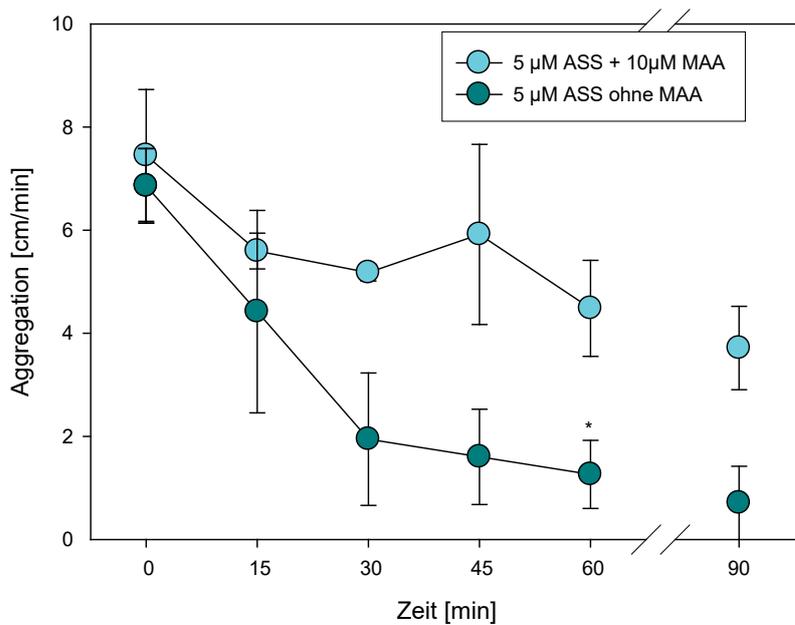


Abb. 17: Effekt von 10 μM MAA auf die zeitabhängige Hemmung der Vollblut-Aggregation durch 5 μM ASS.

Mittlere Aggregation gemessen als Tangentensteigung in cm/min in der Impedanzaggregometrie nach Cardinal & Flower in Vollblutproben gesunder Probanden nach Inkubation mit 5 μM ASS allein (petrol) und nach Inkubation mit 5 μM ASS und 10 μM MAA (türkis). Stimulation mit 1 mM ARA. Ein Punkt entspricht 3 unabhängigen Messungen. *) $p < 0,05$. Nach 75 Minuten erfolgte keine Messung (dargestellt als Achsenbruch). ARA = Arachidonsäure, ASS = Acetylsalicylsäure, MAA = 4-Methylaminoantipyrin

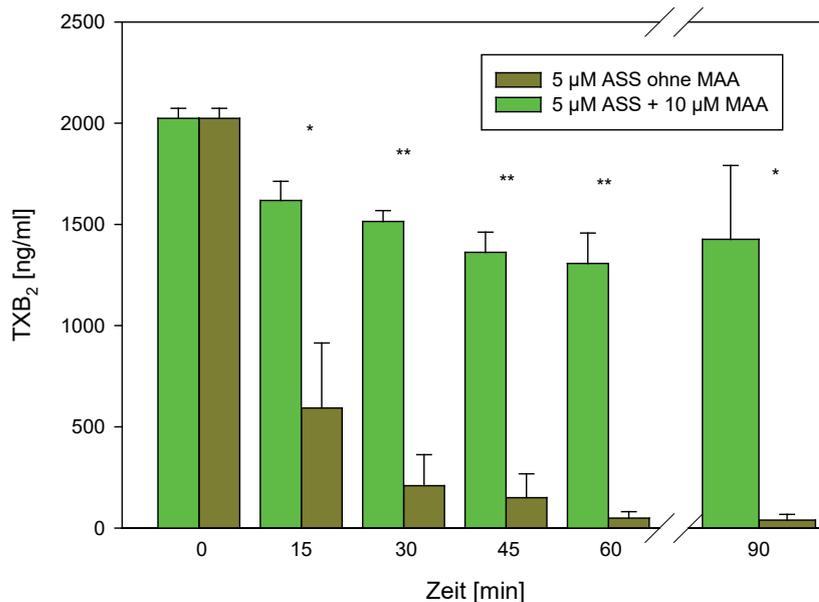


Abb. 18: Effekt von 10 µM MAA auf die zeitabhängige Hemmung der Thromboxansynthese in stimuliertem Vollblut durch 5 µM ASS.

Mittlere TXB₂-Konzentrationen nach Vollblut-Stimulation gemessen im RIA in ng/ml zu verschiedenen Zeiten nach Inkubation mit ASS allein (khaki) und nach Inkubation mit ASS und MAA (grün). Stimulation mit 1mM ARA. Jede Säule entspricht 4 unabhängigen Messungen. Nach 75 Minuten erfolgte keine Messung (dargestellt als Achsenbruch). **) p < 0,01. *) p < 0,05. ARA = Arachidonsäure, ASS = Acetylsalicylsäure, MAA = 4-Methylaminoantipyrin, RIA = Radioimmunoassay, TXB₂ = Thromboxan B₂

Zusammenfassend zeigte sich unabhängig von der eingesetzten ASS-Konzentration, sowohl im Vollblut- als auch im PRP-Ansatz in Anwesenheit von MAA eine statistisch signifikant höhere Aggregation und Thromboxansynthese, verglichen mit den Messungen der Zeitkinetik ohne MAA, entsprechend einer pharmakodynamischen Interaktion zwischen ASS und MAA. Im PRP trat die Interaktion schon deutlich früher auf. Hier wurde jedoch auch mit einer höheren ASS Konzentration (30 µM ASS) gearbeitet.

3.1.4 Zusammenfassung der Pilotstudien

Die experimentellen Ergebnisse zeigten, dass MAA die Hemmung der Thrombozytenfunktion durch ASS abschwächt oder aufhebt. Dies gilt sowohl nach Stimulation der Thrombozyten mit ARA als auch nach Kollagenstimulation in Messungen im PRP gesunder Probanden. Die Interaktion trat abhängig von der eingesetzten Konzentration von MAA und ASS auf. So konnten hohe Konzentrationen von MAA selbst den antithrombozytären Effekt von hohen ASS-

Konzentrationen unterbinden oder abschwächen, wohingegen dies bei niedrigeren Konzentrationen von ASS auch schon für entsprechend niedrigerer Konzentrationen von MAA galt.

Auch wenn die Unterschiede zwischen den Messungen mit ASS allein und ASS und MAA aufgrund der interindividuellen Variationsbreite nicht immer statistisch signifikant ausfielen, ergaben sich doch klare Hinweise auf eine pharmakologische Interaktion beider Substanzen. Besonders deutlich zeigte sich die Interaktion in den zeitkinetischen Untersuchungen an PRP- und Vollblutproben gesunder Probanden, welche mit ARA stimuliert wurden.

3.2 Klinische Studie

Die Studie wurde als klinische Beobachtungsstudie an Patienten unter *low-dose* ASS-Therapie und Schmerztherapie mit Metamizol geplant. Für die *in vitro* Analysen der Thrombozytenfunktion wurden die Thrombozyten mit 1 mM ARA stimuliert. Zur Charakterisierung der Hemmung durch ASS wurde dieses in Konzentrationen von 30 und 100 μ M eingesetzt (s. Kapitel 2.3.5.).

Bei den Studienpatienten bestanden weder Blutungskomplikationen, gastrointestinale Komplikationen oder allergische Reaktionen durch die Therapie mit ASS, noch Blutbildveränderungen im Sinne einer Agranulozytose, Blutdruckabfall oder anaphylaktoide Reaktionen durch die Therapie mit Metamizol auf. Zum Zeitpunkt der Blutabnahmen waren keine akuten vaskulären Ereignisse im Sinne eines Myokardinfarktes, Apoplex oder anderweitigen arteriellen thrombembolischen Ereignisse bekannt. Die Studie war nicht als Langzeitbeobachtungsstudie ausgelegt, so dass keine *Follow-Up* Untersuchungen durchgeführt wurden.

In der Gruppe unter Behandlung mit Metamizol und ASS (Gruppe 1) wurden nach Ausschluss von 3 Patienten, 27 Patienten eingeschlossen. Gruppe 2 mit Patienten unter ASS-Therapie ohne Metamizoleinnahme umfasste 10 Patienten. Die Gründe für den Ausschluss von 3 Patienten aus der Metamizolgruppe sind Abbildung 19 zu entnehmen.

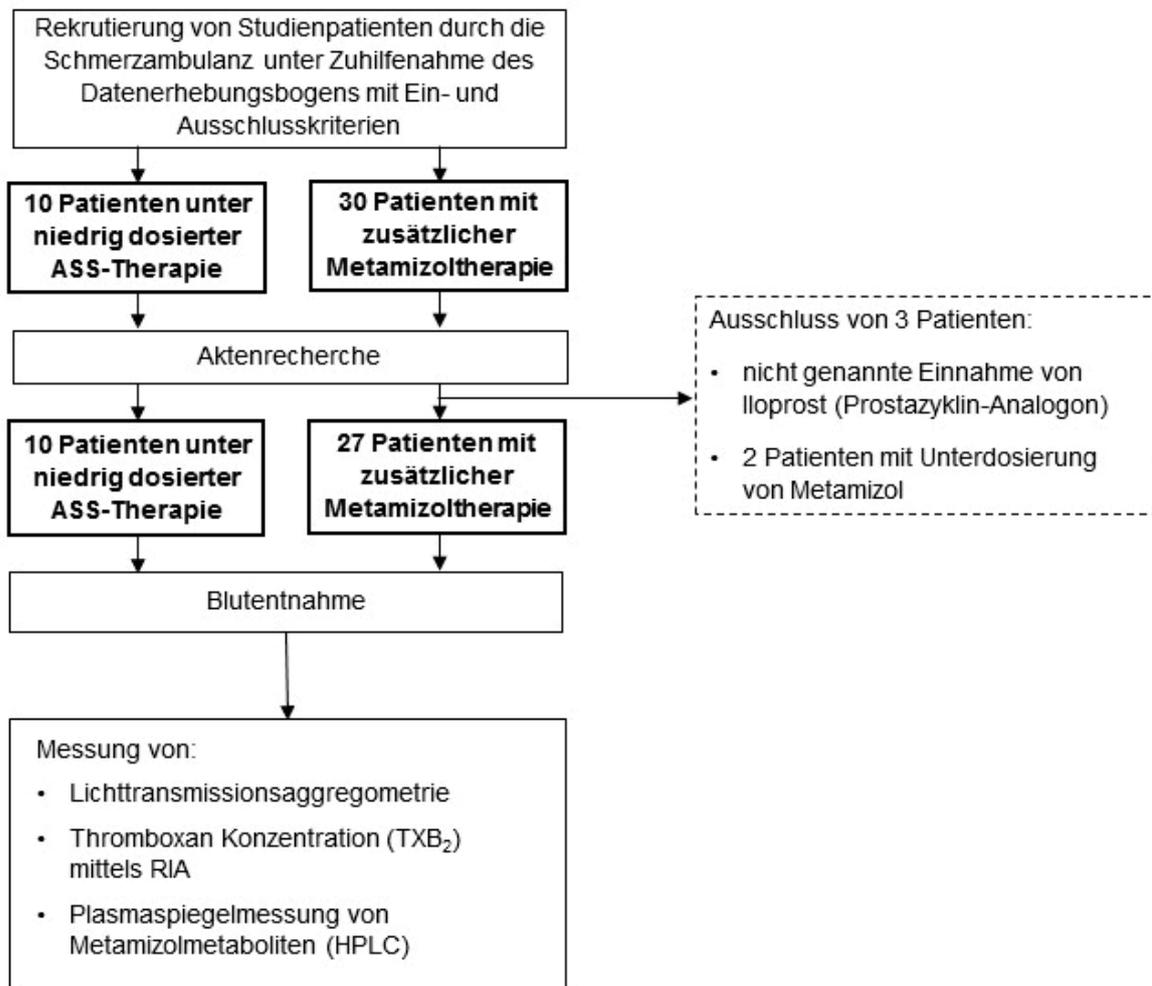


Abb. 19: Ablauf der klinischen Studie

Beschreibung des groben Ablaufes der klinischen Studie, Patientenrekrutierung und Gründen für den Ausschluss aus der Studie. Abkürzungen: TXB₂ = Thromboxan B₂ (stabiler Metabolit von Thromboxan A₂), RIA = *Radioimmunoassay*, HPLC = Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (*High Performance Liquid Chromatography*)

3.2.1 Patientencharakteristika

Demographische und biometrische Daten, sowie Angaben zu Leber- und Nierenfunktion sind in Tabelle 2 getrennt nach Studiengruppe und in Tabelle 3 getrennt nach ASS-Responderstatus zusammengefasst. Es bestand kein signifikanter Unterschied hinsichtlich dieser Charakteristika zwischen den zwei Studiengruppen und auch kein signifikanter Einfluss auf die Thrombozytenaggregation und Thromboxansynthese.

| Patientencharakteristika | Gruppe 1: Metamizol + ASS (n=27) | Gruppe 2: ASS (n=10) | Statistische Signifikanz |
|--------------------------|--|--|--------------------------|
| Alter [Jahre] | Mittelwert: 71,4 ± 2,0 Bereich: 45 – 88 Median: 72 | Mittelwert: 71,8 ± 3,6 Bereich: 52 – 84 Median: 73 | P=0,91 |
| Körpergewicht [kg] | Mittelwert: 78,3 ± 3,0 Bereich: 46 - 103 Median: 75 | Mittelwert: 83,6 ± 6,1 Bereich: 65 - 130 Median: 78,5 | P=0,39 |
| Geschlecht [♀ in %] | 40,7 % (n=11) | 40 % (n=4) | P=1,0 |
| BMI [kg/m ²] | Mittelwert: 26,0 ± 0,8 Bereich: 18,5 – 36,8 Median: 25,9 | Mittelwert: 29,0 ± 2,0 Bereich: 22,2 – 45,0 Median: 26,8 | P=0,11 |
| Leberfunktionsstörung | 33,3 % (n=9) | 20 % (n=2) | P=0,69 |
| Nierenfunktionsstörung | 37 % (n=10) | 40 % (n=4) | P=1,0 |

Tabelle 2: Patientencharakteristika getrennt für die Gruppen mit (Gruppe 1) und ohne Metamizoltherapie (Gruppe 2).

Leberfunktionsstörung: bekannte Leberzirrhose oder Gamma-Glutamyltransferase (γ -GT) Wert > 100 U/l. Nierenfunktionsstörung: anamnestisch bekannte chronische Niereninsuffizienz oder eine glomeruläre Filtrationsrate (GFR) (berechnet nach der MDRD („*Modification of Diet in Renal Disease*“)-Formel) < 50 ml/min. ASS = Acetylsalicylsäure, BMI = *Body-Mass-Index*, Körpermasseindex

| Patientencharakteristika | ASS-Non-Response | ASS-Response | Statistische Signifikanz |
|--------------------------|--|--|--------------------------|
| Alter [Jahre] | Mittelwert: 72,7 ± 2,1 Bereich: 45 – 88 Median: 72,5 | Mittelwert: 69,7 ± 3,0 Bereich: 51 – 84 Median: 68 | P=0,39 |
| Körpergewicht [kg] | Mittelwert: 80,3 ± 2,9 Bereich: 54 - 100 Median: 81,5 | Mittelwert: 78,9 ± 5,2 Bereich: 46 - 130 Median: 73 | P=0,81 |
| Geschlecht [♀ in %] | 36,4 % (n=8) | 46,7 % (n=7) | P=0,73 |
| BMI [kg/m ²] | Mittelwert: 26,3 ± 0,9 Bereich: 18,5 – 36,8 Median: 25,9 | Mittelwert: 27,6 ± 1,6 Bereich: 19,4 – 45,0 Median: 26,4 | P=0,43 |
| Leberfunktionsstörung | 40,9 % (n=9) | 13,3 % (n=2) | P=0,14 |
| Nierenfunktionsstörung | 36,4 % (n=8) | 40 % (n=6) | P=1,0 |

Tabelle 3: Patientencharakteristika getrennt nach ASS-Responderstatus.

Leberfunktionsstörung: bekannte Leberzirrhose oder Gamma-Glutamyltransferase (γ -GT) Wert > 100 U/l. Nierenfunktionsstörung: anamnestisch bekannte chronische Niereninsuffizienz oder eine glomeruläre Filtrationsrate (GFR) (berechnet nach der MDRD („*Modification of Diet in Renal Disease*“)-Formel) < 50 ml/min. ASS = Acetylsalicylsäure, BMI = *Body-Mass-Index*, Körpermasseindex

3.2.2 Medikation

3.2.2.1 Indikation für *low-dose* ASS-Therapie

Die überwiegende Mehrzahl der Patienten (75,7 %) nahm ASS aufgrund einer koronaren Herzkrankheit als primär- oder sekundärprophylaktische Maßnahme ein. Die Dosierung lag bei allen Patienten bei 100 mg einmal täglich. Bei ungefähr der Hälfte der Patienten begründete ein erhöhtes Risikoprofil für zerebrovaskuläre Ereignisse die ASS-Therapie. Nur insgesamt 7 Patienten wiesen einen atherosklerotischen Befall der peripheren Gefäße auf, davon 6 Patienten in der Metamizol- und 1 Patient in der ASS-Gruppe. Da die Atherosklerose eine chronische Systemerkrankung ist, sind demnach sowohl KHK als auch zerebrale Manifestation und insbesondere die pAVK als lokale klinische Manifestationen einer generalisierten Atherosklerose zu verstehen. Daher ergaben sich oft Überschneidungen zwischen den einzelnen Entitäten (37,8 %), welche unter „kombiniert“ in Tabelle 4 aufgeführt sind. Bei einem Patienten aus Gruppe 1 ließ sich die Indikation für die *low-dose* ASS Therapie nicht eruieren. Die beiden Studiengruppen unterschieden sich in keinem Parameter signifikant.

| ASS-Indikation | Gesamtkollektiv | Gruppe 1 | Gruppe 2 | Statistische Signifikanz |
|-------------------|-----------------|---------------|------------|--------------------------|
| Kardial | 75,7 % (n=28) | 74,1 % (n=20) | 80 % (n=8) | P=1,0 |
| Zerebral | 51,4 % (n=19) | 59,2 % (n=16) | 30 % (n=3) | P=0,15 |
| Peripher | 18,9 % (n=7) | 22,2 % (n=6) | 10 % (n=1) | P=0,65 |
| Kombiniert | 43,2 % (n=16) | 51,9 % (n=14) | 20 % (n=2) | P=0,14 |
| Andere Indikation | 2,7 % (n=1) | 3,7 % (n=1) | 0 | P=1,0 |

Tabelle 4: Indikation für die *low-dose* ASS Therapie getrennt nach Studiengruppe.

Relative Häufigkeiten in Prozent, Absolutzahlen als n = x in Klammern. ASS = Acetylsalicylsäure

3.2.2.2 Indikation und Dosierung der Metamizoltherapie

Alle Patienten der Gruppe 1 nahmen Metamizol seit mindestens 5 Tagen ein. Die gewichtsadaptierte Metamizoldosis reichte von 22,7 – 74,1 mg/kg Körpergewicht (KG) pro Tag und 9,0 – 18,5 mg/kg KG pro Einzeldosis. Die Absolutdosen lagen zwischen 1500 mg/d und 4000 mg/d. Zwei Patienten lagen unter der definierten gewichtsadaptierten Dosis pro Gabe und mussten exkludiert werden (s. Abb. 19).

Schmerzgenese und Schmerzqualität zeigten innerhalb der Gruppe eine breite Varianz. Das Verhältnis von akutem und chronischem Schmerz, definiert als eine Schmerzanamnese von > 6 Monaten, war mit jeweils 50 % genau ausgeglichen. Bei einem Patienten war der Schmerzcharakter nicht eindeutig klassifizierbar.

Die Hauptursache für akuten Schmerz war ein zurückliegender operativer Eingriff, gefolgt von akuten Schmerzen des Magendarmtraktes (z.B. Appendizitis, Pankreatitis, Darmperforation) und Fraktur Schmerzen. Ursache für chronischen Schmerz waren vorwiegend degenerative Erkrankungen des Bewegungsapparates (n = 7) wie Arthrose, Spinalkanalstenose oder Wirbelsäulenschmerzen (Lendenwirbelsäulen (LWS)/Halswirbelsäulen (HWS)-Syndrom). Weitere Zuordnungen zur Kategorie „chronischer Schmerz“ betrafen Tumorschmerz (n = 4), neuropathischer Schmerz (u.a. Trigeminusneuralgie) (n = 2), Schmerzen im Abdomenbereich (*Capillary leakage*, chronische Divertikulitis) und rheumatische Erkrankungen (Chronische Polyarthritis, Vaskulitis). Sowohl der Schmerzcharakter (chronisch, akut) als auch die Höhe der Metamizoldosierung hatten keinen signifikanten Einfluss auf den Responderstatus der Patientengruppe unter Metamizoltherapie.

3.2.2.3 Begleitmedikation

Die Häufigkeiten zur Komedikation bestimmter Medikamentenklassen sind in Tabelle 5 aufgeteilt nach Studiengruppe und in Tabelle 6 aufgeteilt nach ASS-Responderstatus aufgeführt. Für fünf Patienten in ambulanter Betreuung fanden sich keine Angaben zur Begleitmedikation. Davon waren 3 Patienten ASS-Non-Responder und 2 ASS-Responder (s. auch Kapitel 2.2.2).

Am weitaus häufigsten wurden Antihypertensiva (ACE (*Angiotensin-Converting-Enzyme*)-Hemmer/AT1 (Angiotensin-II-Rezeptor-Subtyp-1)-Antagonisten, Calciumantagonisten, Diuretika und Betablocker) und Statine eingenommen, was aufgrund der zugrunde liegenden kardiovaskulären Grunderkrankung einleuchtet (s. Kapitel 3.2.2.1).

Ein statistisch signifikanter Gruppenunterschied bezüglich der Einnahme von weiteren Medikamenten bestand einzig für den zusätzlichen Bedarf an Schmerzmitteln. 9 Patienten der Metamizolgruppe (33,3 %) hatten Bedarf an zusätzlicher Schmerzmedikation. So erhielten 7 Patienten zusätzlich Opiode (z.B.

Oxycodon, Tilidin, Fentanyl), ein Patient Paracetamol als Kurzinfusion bei Bedarf und in Einzelfällen kam es auch zum Einsatz von Antikonvulsiva als Koanalgetika bei neuropathischen Schmerzen. In Gruppe 2 unter ASS ohne Metamizol hingegen hatte kein Patient Schmerzen, die mit weiteren Schmerzmitteln therapiert werden mussten. Dieser Unterschied war mit $p < 0,05^*$ signifikant.

Die Begleitmedikation hatte keinen statistisch signifikanten Einfluss auf die Thrombozytenfunktion.

| Medikamentenklasse | Gruppe 1: Metamizol+ASS (Angaben für n=22) | Gruppe 2: ASS (Angaben für n=10) | Statistische Signifikanz |
|--|--|--|-----------------------------|
| Betablocker | 10 (45,4 %) | 5 (50 %) | P=1,00 |
| Statine | 6 (27,2 %) | 6 (60 %) | P=0,12 |
| Diuretika (Schleife und Thiazide) | 14 (63,6 %) | 4 (40 %) | P=0,27 |
| ACE-Hemmer/AT ₁ -Antagonisten | 13 (59 %) | 8 (80 %) | P=0,43 |
| Calciumantagonisten | 8 (36,4 %) | 3 (30 %) | P=1,0 |
| Kortison | 4 (18,1 %) | 1 (10 %) | P=1,0 |
| Psychopharmaka | 4 (18,1 %) | 3 (30 %) | P=0,65 |
| L-Dopa | 5 (22,7 %) | 0 | P=0,16 |
| Zusätzliche Schmerzmedikation | 9 (40,9 %) | 0 | P=0,03 * |
| Protonenpumpeninhibitoren | 8 (36,4 %) | 2 (20 %) | P=0,44 |

Tabelle 5: Begleitmedikation der Studienpatienten getrennt nach Studiengruppe

Relative Häufigkeiten in Prozent, Absolutzahlen als $n = x$ in Klammern. Bei 5 Patienten der Gruppe 1 war eine vollständige klinische Dokumentation nicht zugänglich. ASS = Acetylsalicylsäure, ACE-Hemmer = *Angiotensin-Converting-Enzyme*-Hemmer; AT₁-Antagonisten = Angiotensin-II-Rezeptor-Subtyp-1-Antagonisten

| Medikamentenklasse | ASS-Non-Response (Angaben für n=19) | ASS-Response (Angaben für n=13) | Statistische Signifikanz |
|--|---|---|---------------------------------|
| Betablocker | 31,8 % (n=7) | 61,5 % (n=8) | P=0,28 |
| Statine | 31,6 % (n=6) | 46,2 % (n=6) | P=0,47 |
| Diuretika (Schleife und Thiazide) | 57,9 % (n=11) | 46,2 % (n=6) | P=0,72 |
| ACE-Hemmer/AT ₁ -Antagonisten | 52,6 % (n=10) | 76,9 % (n=10) | P=0,27 |
| Calciumantagonisten | 31,6 % (n=6) | 33,3 % (n=5) | P=0,72 |
| Kortison | 10,5 % (n=2) | 15,4 % (n=2) | P=1,00 |
| Psychopharmaka | 15,8 % (n=3) | 30,8 % (n=4) | P=0,40 |
| L-Dopa | 26,3 % (n=5) | 0 % | P=0,06 |
| Schmerzmedikation | 42,1 % (n=8) | 7,7 % (n=1) | P=0,05 |
| Protonenpumpeninhibitoren | 42,1 % (n=5) | 15,4 % (n=2) | P=0,67 |

Tabelle 6: Begleitmedikation der Studienpatienten getrennt nach ASS-Responderstatus.

Relative Häufigkeiten in Prozent, Absolutzahlen als n = x in Klammern. Angaben hierzu fanden sich für 19 von 22 ASS-Non-Respondern und 13 von 15 ASS-Respondern. ASS = Acetylsalicylsäure, ACE-Hemmer = *Angiotensin-Converting-Enzyme*-Hemmer; AT₁-Antagonisten = Angiotensin-II-Rezeptor-Subtyp-1-Antagonisten

3.2.3 Begleiterkrankungen

Mittels Aktenrecherche und strukturiertem Fragebogen (s. Anhang) wurden Komorbiditäten des Patientenkollektivs ermittelt, welche dann statistisch auf Gruppenunterschiede und Einfluss auf die Thrombozytenaggregation untersucht wurden. Besonderer Fokus lag dabei auf kardialen, zerebralen oder allgemein vaskulären Begleiterkrankungen, Grunderkrankungen, die als vaskuläre Risikofaktoren gelten wie Diabetes mellitus, bereits abgelaufenen thromboembolischen Ereignissen und Tumorerkrankungen.

Die weitaus häufigste Begleiterkrankung im Studienkollektiv war die arterielle Hypertonie von der mehr als 85 % der Patienten (23 von 27 Patienten in Gruppe 1 und 9 von 10 Patienten in Gruppe 2) betroffen waren (s. Kapitel 3.2.2.3), gefolgt von der KHK mit 70 % und mehr. Die hohe Zahl an KHK-Patienten war zu erwarten, da die Hauptindikation für eine antithrombozytäre Therapie mit *low-dose* ASS die KHK darstellt. Insgesamt 20 Patienten wiesen ein abgelaufenes thromboembolisches Ereignis in ihrer Anamnese auf, wovon 17 Patienten - statistisch nicht signifikanter Unterschied - der Metamizolgruppe zugeordnet waren (Tabelle 7, Unterpunkt Andere).

| Begleiterkrankungen | Gruppe 1: Metamizol+ASS | Gruppe 2: ASS | Statistische Signifikanz |
|--|----------------------------|-------------------|-----------------------------|
| Kardiovaskulär (n=28) | 74,1 % (n=20) | 80 % (n=8) | P=1,0 |
| KHK | 70,4 % (n=19) | 70 % (n=7) | P=1,0 |
| Kardialer Bypass | 29,6 % (n=8) | 30 % (n=3) | P=1,0 |
| Stent | 11,1 % (n=3) | 40 % (n=4) | P=0,07 |
| Z.n. Myokardinfarkt | 33,3 % (n=9) | 10 % (n=1) | P=0,23 |
| Zerebrovaskulär (n=19) | 59,2 % (n=16) | 30 % (n=3) | P=0,15 |
| Z.n. TEA | 11,1 % (n=3) | 0 | P=0,55 |
| Z.n. Apoplex | 37 % (n=10) | 20 % (n=2) | P=0,45 |
| Peripher arteriell (n=7) | 22,2 % (n=6) | 10 % (n=1) | P=0,65 |
| Z.n. peripherarteriellem Bypass | 3,7 % (n=1) | 10 % (n=1) | P=0,47 |
| Z.n. peripherarteriellem Stenting | 3,7 % (n=1) | 10 % (n=1) | P=0,47 |
| Risikofaktoren für Atherosklerose | | | |
| Arterielle Hypertonie | 85,2 % (n=23) | 90 % (n=9) | P=1,0 |
| Diabetes mellitus | 37 % (n=10) | 40 % (n=4) | P=1,0 |
| Therapierelevante Hyperlipidämie | 22,2 % (n=6) | 60 % (n=6) | P=0,05 |
| Andere | | | |
| Aneurysma | 22,2 % (n=6) | 0 | P=0,16 |
| Maligner Tumor | 25,9 % (n=7) | 30 % (n=3) | P=1,0 |
| Z.n. thromboembolischem Ereignis (allgemein) | 63 % (n=17) | 30 % (n=3) | P=0,14 |

Tabelle 7: Häufigkeit und Verteilung vaskulärer Begleiterkrankungen, thromboembolischer Ereignisse und anderer Erkrankungen mit potentiellm Einfluss auf die Thrombozytenaktivität in den Patientengruppen.

Relative Häufigkeiten in Prozent, Absolutzahlen als n = x in Klammern. ASS = Acetylsalicylsäure, KHK = Koronare Herzkrankheit, TEA = Thrombendarteriektomie

Die Gruppe der *ASS-Non-Responder* umfasste mit 50 % des Studienkollektivs signifikant mehr Patienten die bereits einen zerebralen Insult erlitten hatten als die Gruppe der *ASS-Responder*, in welcher nur bei einem von 15 Patienten ein Apoplex anamnestisch beschrieben war ($p < 0,05^*$) (Tabelle 8).

| Begleiterkrankungen | ASS-Non-Responder (n=22) | ASS-Responder (n=15) | Statistische Signifikanz |
|--|---------------------------------|-----------------------------|---------------------------------|
| Kardiovaskulär (n=28) | 68,2 % (n=15) | 86,7 % (n=13) | P=0,26 |
| KHK | 63,6 % (n=14) | 80 % (n=12) | P=0,47 |
| Kardialer Bypass | 22,7 % (n=5) | 40 % (n=6) | P=0,30 |
| Stent | 9,1 % (n=2) | 33,3 % (n=5) | P=0,10 |
| Z.n. Myokardinfarkt | 22,7 % (n=5) | 33,3 % (n=5) | P=0,71 |
| Zerebrovaskulär (n=19) | 63,6 % (n=14) | 33,3 % (n=5) | P=0,10 |
| Z.n. Thrombendarteriektomie (TEA) | 9,1 % (n=2) | 6,7 % (n=1) | P=1,0 |
| Z.n. Apoplex | 50 % (n=11) | 6,7 % (n=1) | P=0,01* |
| Peripher arteriell (n=7) | 22,7 % (n=5) | 13,3 % (n=2) | P=0,68 |
| Z.n. peripherarteriellem Bypass | 4,5 % (n=1) | 6,7 % (n=1) | P=1,0 |
| Z.n. peripherarteriellem Stenting | 9,1 % (n=2) | 0 | P=0,51 |
| Risikofaktoren für Atherosklerose | | | |
| Arterielle Hypertonie | 90,9 % (n=20) | 80 % (n=12) | P=0,38 |
| Diabetes mellitus | 40,9 % (n=9) | 33,3 % (n=5) | P=0,74 |
| Therapierelevante Hyperlipidämie | 31,6 % (n=6) | 46,2 % (n=6) | P=0,49 |
| Andere | | | |
| Aneurysma | 18,2 % (n=4) | 13,3 % (n=2) | P=1,0 |
| Maligner Tumor | 27,3 % (n=6) | 20 % (n=3) | P=0,71 |

Tabelle 8: Häufigkeit und Verteilung vaskulärer Begleiterkrankungen und anderer Erkrankungen mit potentiellm Einfluss auf die Thrombozytenaktivität getrennt nach ASS-Responderstatus.

Relative Häufigkeiten in Prozent, bezogen auf *Responder* bzw. *Non-Responder*. Absolutzahlen als n=x in Klammern. ASS = Acetylsalicylsäure, KHK = Koronare Herzkrankheit, TEA = Thrombendarteriektomie

Entsprechend zeigten von den zerebrovaskulär betroffenen Patienten mehr Patienten eine *ASS-Non-Response* (73,7 %) und insbesondere fast alle Patienten mit Apoplex eine *ASS-Non-Response* (91,7 %, $p < 0,05^*$) im untersuchten Kollektiv. Auch peripherarteriell erkrankte Patienten zeigten häufiger eine *ASS-Non-Response* (71,4 %), wohingegen bei kardiovaskulärer Indikation für *low-dose* ASS mit 53,6 % *ASS-Non-Respondern* die Verteilung nahezu ausgeglichen war. Kardiovaskuläre Risikofaktoren wie arterielle Hypertonie und Diabetes mellitus kamen in der Gruppe der *ASS-Non-Responder* häufiger vor, sowie auch Aneurysmata und maligne Neoplasien. Dieser Unterschied war jedoch statistisch nicht signifikant (s. Tabelle 9).

| Begleiterkrankungen | ASS-Non-Responder (n=22) | ASS-Responder (n=15) | Statistische Signifikanz |
|--|---------------------------------|-----------------------------|---------------------------------|
| Kardiovaskulär (n=28) | 53,6 % (n=15) | 46,4 % (n=13) | P=0,26 |
| KHK (n=26) | 53,9 % (n=14) | 46,1 % (n=12) | P=0,47 |
| Kardialer Bypass (n=11) | 45,5 % (n=5) | 54,5 % (n=6) | P=0,30 |
| Stent (n=7) | 28,6 % (n=2) | 71,4 % (n=5) | P=0,10 |
| Z.n. Myokardinfarkt (n=10) | 50 % (n=5) | 50 % (n=5) | P=0,71 |
| Zerebrovaskulär (n=19) | 73,7 % (n=14) | 26,3 % (n=5) | P=0,10 |
| Z.n. Thrombendarteriektomie (TEA) (n=3) | 66,7 % (n=2) | 33,3 % (n=1) | P=1,0 |
| Z.n. Apoplex (n=12) | 91,7 % (n=11) | 8,3 % (n=1) | P=0,01* |
| Peripher arteriell (n=7) | 71,4 % (n=5) | 28,6 % (n=2) | P=0,68 |
| Z.n. peripherarteriellem Bypass (n=2) | 50 % (n=1) | 50 % (n=1) | P=1,0 |
| Z.n. peripherarteriellem Stenting (n=2) | 100 % (n=2) | 0 | P=0,51 |
| Risikofaktoren für Atherosklerose | | | |
| Arterielle Hypertonie (n=32) | 62,5 % (n=20) | 37,5 % (n=12) | P=0,38 |
| Diabetes mellitus (n=14) | 64,3 % (n=9) | 35,7 % (n=5) | P=0,74 |
| Therapierelevante Hyperlipidämie (n=12) | 50 % (n=6) | 50 % (n=6) | P=0,49 |
| Andere | | | |
| Aneurysma (n=6) | 66,7 % (n=4) | 33,3 % (n=2) | P=1,0 |
| Maligner Tumor (n=9) | 66,7 % (n=6) | 33,3 % (n=3) | P=0,71 |

Tabelle 9: Häufigkeit von ASS-Non-Response und ASS-Response in bestimmten Erkrankungsgruppen

Relative Häufigkeiten in Prozent, bezogen auf die Erkrankungsgruppe. Absolutzahlen als n=x in Klammern. ASS = Acetylsalicylsäure, KHK = Koronare Herzkrankheit, TEA = Thrombendarteriektomie

3.2.4 Ergebnisse zur Thrombozytenfunktion der Patienten

3.2.4.1 Interaktion von Metamizol und ASS im plättchenreichen Plasma (PRP)

Unter den mit Metamizol therapierten Patienten zeigten 21 von 27 keine Hemmung der Arachidonsäure-induzierten Thrombozytenaggregation trotz Langzeittherapie mit ASS. Dies entspricht einem Prozentanteil für ASS-Non-Responder von 77,8 % und entsprechend nur 22,2 % Therapieansprechen von ASS in der Patientengruppe 1.

In der Gruppe ohne Metamizoltherapie (Gruppe 2) ließ sich hingegen durch Stimulation mit 1 mM ARA nur bei einem von 10 Patienten unter Therapie mit ASS die Thrombozytenaggregation auslösen. Das heißt, lediglich 10 % der Patienten aus dieser Gruppe konnten als *ASS-Non-Responder* identifiziert werden (Abb. 20). Statistisch war der Gruppenunterschied im Aggregationsverhalten hochsignifikant ($p < 0,001^{***}$ (genauer Wert: $p = 0,000325$)).

Dementsprechend waren im Kollektiv ohne Metamizoltherapie 90 % der Patienten durch die tägliche Einnahme von 100 mg ASS effektiv antithrombozytär therapiert, wohingegen dies für nur für 22,2 % der Patienten unter gleichzeitiger Schmerztherapie mit Metamizol in der Aggregationsmessung gezeigt werden konnte.

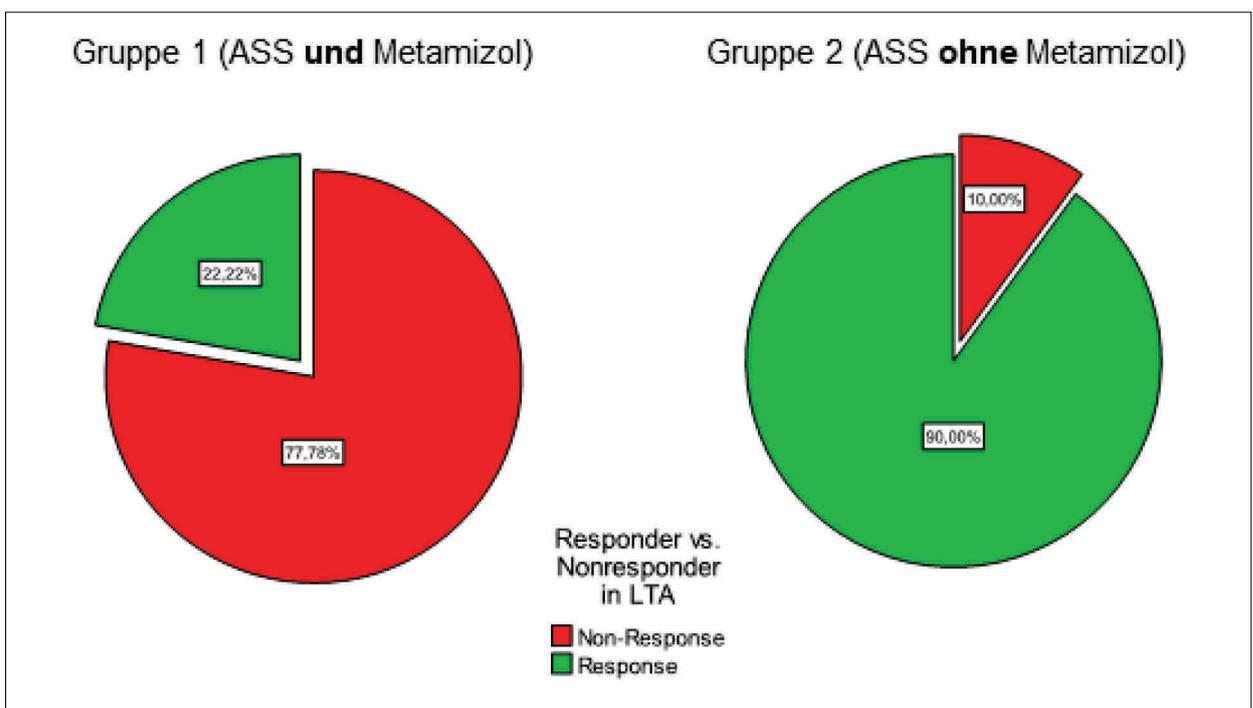


Abb. 20: Aggregationsverhalten in den Patientengruppen

ASS-Non-Responder: rot, *ASS-Responder*: grün. Angabe als relative Häufigkeiten in Prozent. ASS = Acetylsalicylsäure, LTA = Lichttransmissionsaggregometrie

Die mittlere Aggregation war in Patientengruppe 1 (Komedikation mit Metamizol) signifikant höher als in Patientengruppe 2 (ASS ohne Metamizol) ($p < 0,001^{***}$). So lag die mittlere Aggregation in der Gruppe unter Metamizoltherapie bei $8,64 \pm 0,93$ cm/min im Vergleich zu 0,11 cm/min in der Gruppe ohne Metamizoltherapie. Der einzige *ASS-Non-Responder* in Gruppe 2 zeigte mit einer mittleren Steigung von 1,1 cm/min auch nur eine schwache Aggregation (Abb. 21).

Auch durch nachträgliche *ex vivo* Inkubation mit 30 μ M ASS oder 100 μ M ASS stellte sich keine Aggregationshemmung bei Studienpatienten unter Metamizoltherapie

(Gruppe 1) ein, was das Ausmaß der *ASS-Non-Response* eindrücklich belegt. Die Werte für die Aggregation konnten nur um maximal 7,45 % bei *in vitro* Zugabe von 100 μM ASS reduziert werden, die Aggregation durch Zusatz von ASS *ex vivo* in keinem Fall vollständig oder statistisch signifikant supprimiert werden. In den Pilotstudien konnte hingegen an PRP Proben gesunder Probanden ohne *low-dose* ASS Therapie durch 100 μM ASS die Aggregation vollständig inhibiert werden (Abb. 8 und Abb. 10) und durch 30 μM ASS die Aggregation im Gesamtkollektiv signifikant supprimiert werden (Abb. 8). Auch der einzige *ASS-Non-Responder* in Gruppe 2 zeigte auf nachträgliche (*ex vivo*) ASS-Zugabe hin keine Aggregationshemmung. Beispielhafte Aggregationskurven für *ASS-Response*, *ASS-Non-Response* und Aggregationskurven eines gesunden Probanden mit *ex vivo* ASS-Gabe sind in Abbildung 22 dargestellt.

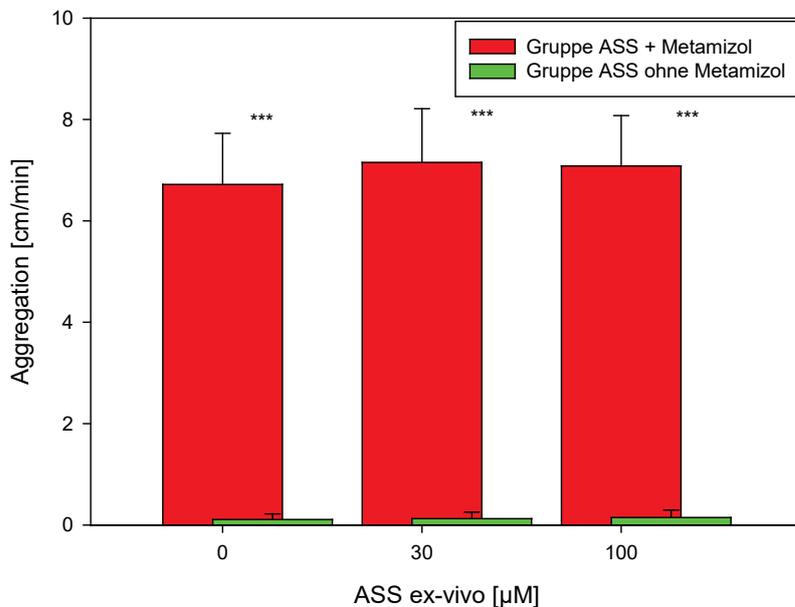


Abb. 21: Effekt von Metamizol auf die ARA-induzierte Thrombozytenaggregation bei Patienten unter *low-dose* ASS-Therapie

Mittlere Aggregation gemessen als Tangentensteigung in cm/min in der Lichttransmissionsagregometrie nach Born in PRP-Proben getrennt nach Studiengruppe. Gruppe 1 unter ASS- und Metamizoltherapie (rot), Gruppe 2 unter ASS-Therapie ohne Metamizoltherapie (grün). *** $p < 0,001$. ASS = Acetylsalicylsäure, ARA = Arachidonsäure, PRP = plättchenreiches Plasma

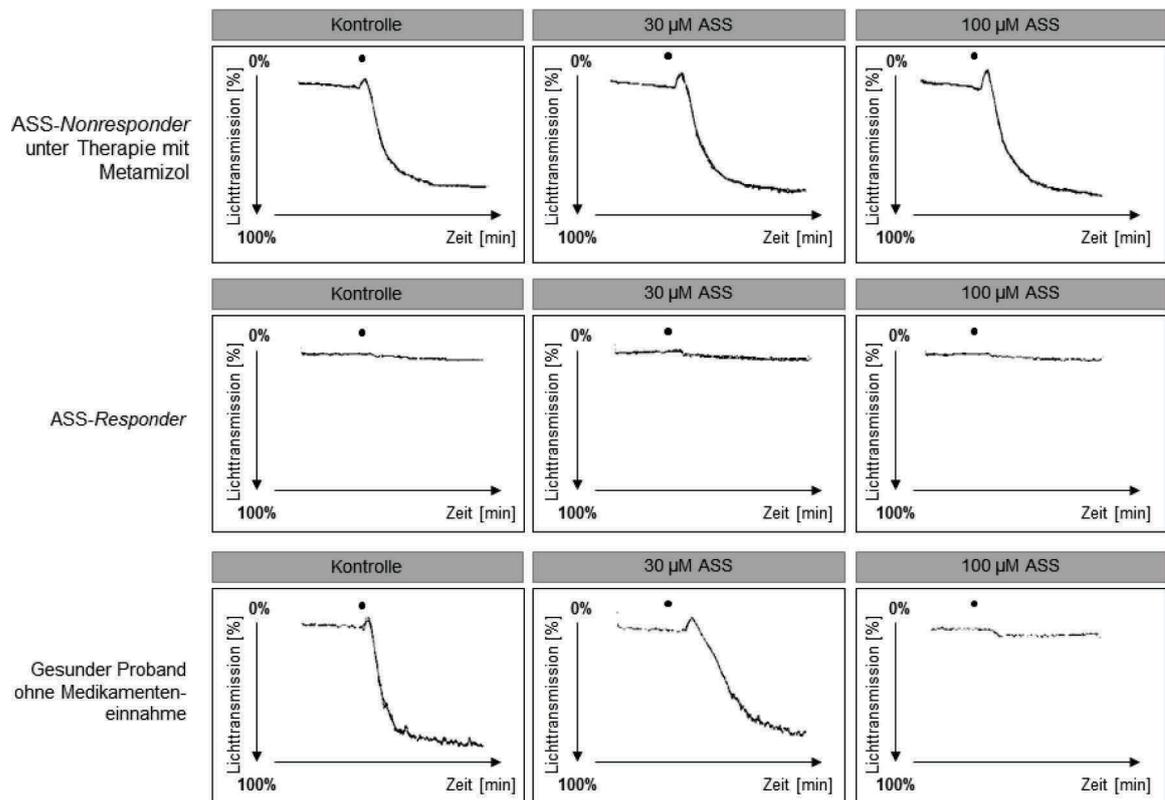


Abb. 22: Exemplarische Originalregistrierungen der Lichttransmissionsaggregometrie nach Born eines ASS-Non-Responders, ASS-Responders und eines Probanden ohne Medikation nach ex vivo Gabe von ASS.

In Zeile 1 sind die Aggregationskurven eines ASS-Non-Responders der Patientengruppe 1, in Zeile 2 die Aggregationskurvens eines *Responders* der Patientengruppe 2, in Zeile 3 die Aggregationskurven eines gesunden Probanden aus den Pilotstudien ohne jegliche Medikamenteneinnahme. Stimulation mit 1 mM ARA. Schwarzer Punkt entspricht Zugabe von ARA. ARA = Arachidonsäure, ASS = Acetylsalicylsäure, PRP = plättchenreiches Plasma

3.2.4.2 Interaktion von Metamizol und ASS – thrombozytäre Thromboxansynthese

Die Aggregation und die TXB₂-Synthese waren erwartungsgemäß positiv miteinander korreliert (nicht gezeigt). Bei TXB₂-Konzentrationen unter 10 ng/ml zeigte sich keine Aggregation, wohingegen bei Konzentrationen > 100 ng/ml stets eine Aggregation zu detektieren war.

Analog zu den Daten für die Aggregation (s. Abb. 21) waren auch die ex vivo erhobenen TXB₂-Konzentrationen der Gruppe 1 signifikant höher als die der Patienten der Gruppe 2 (s. Abb. 23).

Die mittlere TXB₂-Konzentration im PRP in Patientengruppe 1 lag bei 398,06 ± 91,26 ng/ml und war in Patientengruppe 2 mit 6,56 ± 0,66 ng/ml nahezu vollständig supprimiert. Der Unterschied war hochsignifikant (p < 0,001***). Der einzige *Non-*

Responder der Gruppe 2 (ASS ohne Metamizol), der eine schwache Aggregation auf ARA-Stimulation zeigte, lag mit einer TXB₂-Konzentration von 10,1 ng/ml leicht über 10 ng/ml aber immer noch weit unter der mittleren thrombozytären Thromboxanproduktion in der Metamizolgruppe.

Wie schon für die Aggregation gezeigt, konnten auch die TXB₂-Konzentrationen durch nachträgliche *ex vivo* Zugabe von ASS in Gruppe 1 nicht signifikant reduziert werden ($p = 0,692$ für 10 μM ASS, $p = 0,947$ für 30 μM ASS in Gruppe 1) (s. Abb. 23). In Gruppe 1 betrug nach Zugabe von 30 μM ASS die TXB₂-Konzentration noch 84,32 % des Ausgangswertes (ohne *in vitro* ASS Zugabe), nach Zugabe von 100 μM ASS immer noch 81,75 %. Vergleichend dazu kam es in den Pilotstudien an gesunden Probanden nach Zugabe von 30 μM bzw. 100 μM ASS zu einer dosisabhängigen Reduktion der Thromboxansynthese mit nahezu vollständiger Suppression durch 100 μM ASS (s. Abb. 9).

In Gruppe 2 hingegen konnte durch Zugabe von 100 μM ASS die TXB₂-Synthese signifikant supprimiert werden ($p < 0,001^{***}$). Dies galt jedoch nicht für die Aggregation, welche in dieser Gruppe ohnehin bei 9 von 10 Patienten vollständig supprimiert und bei einem *ASS-Non-Responder* dieser Gruppe sehr niedrig war (s. Abb. 21).

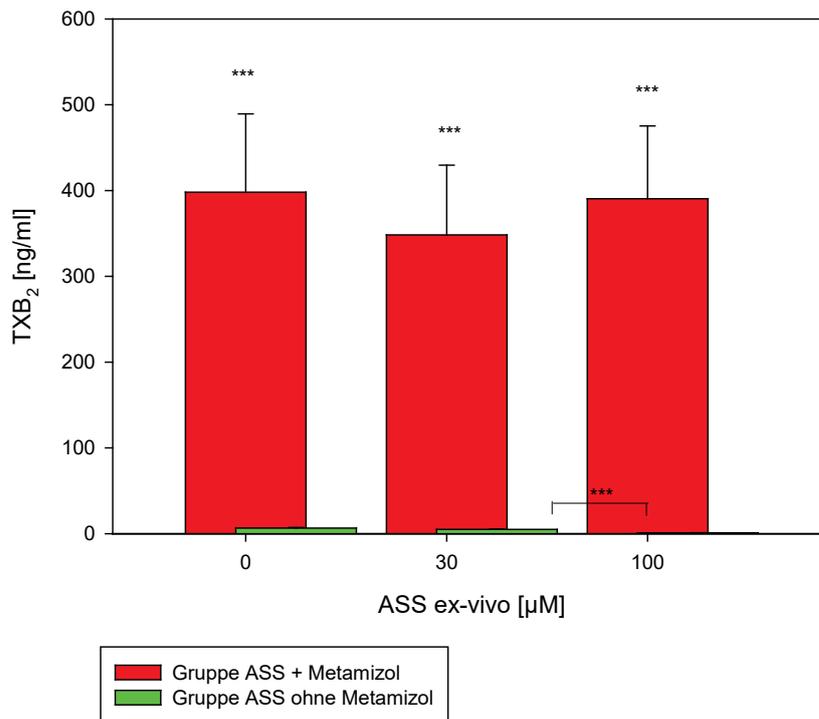


Abb. 23: Effekt von Metamizol auf die Thromboxansynthese unter *low-dose* ASS-Therapie.

Mittlere TXB₂-Konzentrationen nach PRP-Stimulation-gemessen im *Radioimmunoassay* (RIA) in ng/ml der beiden Patientengruppen ohne und mit *ex vivo* Zugabe von ASS. Gruppe 1 (ASS- und Metamizoltherapie): rot, Gruppe 2 (ASS-Therapie ohne Metamizoltherapie): grün. (***) p < 0,001. ASS = Acetylsalicylsäure, ARA = Arachidonsäure, PRP = plättchenreiches Plasma, RIA = *Radioimmunoassay*, TXB₂ = Thromboxan B₂

3.2.4.3 Plasmaspiegel der Metamizolmetabolite

Die Plasmaproben der Patienten in Gruppe 1 zeigten allesamt nachweisbare Mengen von Metamizolmetaboliten, die meist im mikromolaren Bereich lagen. Bezüglich der Metabolite ergab sich eine erhebliche interindividuelle Streuung, die angesichts der relativ kurzen Plasmahalbwertszeit nicht überrascht. Die durchschnittlich höchsten Konzentrationen im Plasma wurden für 4-Acetylaminoantipyrin (AAA) ermittelt. Für 4-Methylaminoantipyrin (MAA) lag der gemessene Bereich geringfügig darunter und wies ebenfalls eine breite Streuung auf. 4-Aminoantipyrin (AA) zeigte mit Werten zwischen 0,55 bis 29,26 µM die niedrigsten Werte im Patientenkollektiv, war jedoch auch in allen Plasmaproben detektierbar. Eine Aufstellung der mittleren Plasmakonzentrationen, Median und Streubreite liefert Tabelle 10.

Der zeitliche Abstand zwischen Medikamenteneinnahme und Blutabnahme war im Protokoll der vorliegenden Studie nicht festgelegt und variierte zwischen 20 Minuten und 6 Stunden. Ein Zusammenhang zwischen der Höhe der Plasmaspiegel, sowie

der Relation der Metabolite zueinander einerseits und der Latenz zwischen Blutentnahme und Medikamenteneinnahme andererseits bestand nicht (nicht gezeigt). Nur die Tatsache, dass Metamizolmetaboliten im Blut nachweisbar waren ergab allerdings einen hoch signifikanten Zusammenhang mit dem antithrombozytären Wirkverlust von ASS ($p < 0,001^{***}$).

Bei Patienten der Gruppe 2, die kein Metamizol eingenommen hatten, waren Metamizolmetaboliten im Plasma erwartungsgemäß nicht nachweisbar.

| | MAA [μM] | AAA [μM] | AA [μM] | Gesamt (MAA+AAA+AA) [μM] |
|------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|--|
| Mittelwert | 71,2 \pm 13,4 | 97,2 \pm 14,3 | 5,8 \pm 1,2 | 174,2 \pm 21,9 |
| Median | 57,2 | 68,7 | 3,4 | 137,8 |
| Range | 4,3 – 347,9 | 17,0 – 290,3 | 0,9 – 29,3 | 31,0 – 425,0 |

Tabelle 10: Plasmakonzentrationen der mittels HPLC gemessenen Hauptmetaboliten von Metamizol in Patientengruppe 1.

HPLC = Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (*High performance liquid chromatography*), MAA = 4-Methylaminoantipyrin (Hauptmetabolit), AAA = 4-Acetylaminoantipyrin, AA = 4-Aminoantipyrin.

4 Diskussion

Im Rahmen der vorliegenden Beobachtungsstudie wurde die Bedeutung der Arzneimittelinteraktion zwischen ASS und Metamizol für die Thrombozytenfunktion bei Schmerzpatienten mit vaskulären Begleiterkrankungen untersucht. Die Ergebnisse zeigen eindrucksvoll, dass bei Komedikation von ASS und Metamizol, die für die Prävention kardiovaskulärer Ereignisse benötigte Hemmung der Plättchenfunktion und Thromboxansynthese durch ASS bei der überwiegenden Mehrzahl (21 von 27), der mit Metamizol behandelten Schmerzpatienten nicht mehr gewährleistet ist und auch durch nachträgliche Zugabe von ASS zu den Thrombozyten dieser Patienten nicht wiederhergestellt werden kann. In der Gruppe, der nur mit ASS therapierten Patienten hingegen, wies lediglich ein Patient eine ASS-Non-Response auf (1 von 10) (Abb. 20 und 21). Die TXB₂-Konzentrationen im Überstand aktivierter Thrombozyten von Patienten mit ASS und Metamizol waren hoch, wohingegen die Konzentrationen im Überstand der Thrombozyten der Gruppe von Patienten mit alleiniger ASS-Behandlung äußerst niedrig waren (Abb. 23).

Die bei ASS-Non-Respondern signifikant höheren Thromboxankonzentrationen zeigten darüber hinaus, dass die Interaktion auf der Ebene der thrombozytären Thromboxansynthese lokalisiert ist. Alle Patienten wiesen Plasmakonzentrationen von Metamizol (MAA) auf, für welche *in vitro* eine Interaktion mit ASS nachgewiesen werden konnten.

In den Pilotstudien zu dieser Studie konnte gezeigt werden, dass es bereits bei Konzentrationen von MAA, die weit unter den Spitzenplasmaspiegeln (c_{max}) von MAA nach oraler Einnahme liegen (für 500 mg c_{max} $13,6 \pm 2,0 \mu\text{mol/L}$, für 1000 mg c_{max} $59,1 \pm 19,5 \mu\text{mol/L}$ (130)) zur Interaktion mit ASS kommt (s. Abb. 10-12 und 14-18), sodass postuliert werden kann, dass diese Arzneimittelinteraktion in der klinischen Situation erhebliche Bedeutung hat. Ebenso zeigten die Pilotstudien, dass die Interaktion auch unter Kollagenstimulation auftritt (s. Abb. 14, s. Kapitel 3.1.2), welches *in vivo* die Aktivierung der Thrombozyten direkt über GP VI oder über den vWF – GP Ib-V-IX-Komplex auslöst und somit als Stimulus näher an den *in vivo* Verhältnissen ist (s. Kapitel 1.1. und Abb. 1). Zudem konnte die Interaktion auch im Vollblut unter Konzentrationen von Metamizol, die den *in vivo* Verhältnissen nach Einnahme von *low-dose* ASS und klinisch üblicher Dosierung von Metamizol entsprechen, reproduziert werden (s. Abb. 17 und 18, s. Kapitel 3.1.3.2.).

4.1 Studienergebnisse zur *ASS-Non-Response* unter Komedikation mit Metamizol

Insgesamt war die Rate an *ASS-Non-Response* im Patientenkollektiv unter Metamizoltherapie unerwartet hoch; sie betrug hier 77 %. Krankheitsspezifisch ergaben sich jedoch deutliche Unterschiede. So fanden sich unter 12 Patienten mit Z.n. Apoplex im Gesamtstudienkollektiv 11 *ASS-Non-Responder* (91,7 %, $p < 0,05^*$), unter 36 Patienten mit beschriebener KHK im Gesamtkollektiv zeigten 14 eine *ASS-Non-Response* (53,9 %). Demnach war die Wahrscheinlichkeit zerebrovaskulärer erkrankter Patienten eine *ASS-Non-Response* zu entwickeln im betrachteten Studienkollektiv höher als bei KHK-Patienten. Auffällig ist, dass der Responderstatus stark mit dem Zustand nach Apoplex assoziiert scheint (Tabelle 8). Auch unter den Patienten mit pAVK fanden sich mit 71,4 %, ähnlich wie bei zerebrovaskulärer Manifestation, mehr Patienten mit *ASS-Non-Response*. Bei atherosklerotischer Beteiligung der peripheren Arterien besteht eine Manifestation der Atherosklerose an z.B. kardialen oder zerebralen Arterien häufig, was auch bei dem in dieser Studie untersuchten Patienten gut erkennbar ist. Aufgrund der relativ kleinen Patientenzahlen der Studiengruppe sollte aber noch nicht geschlossen werden, dass Schlaganfall- oder pAVK-Patienten bevorzugt *ASS-Non-Response* zeigen, zumal viele Patienten mehrere Diagnosen aufwiesen.

Ein ähnliches Studiendesign unter Einschluss von KHK-Patienten ergab in der Gruppe unter Metamizoltherapie eine *ASS-Non-Response*-Rate von ca. 50 % (26). In einer aktuellen Studie mit ähnlichem Studiendesign lag die Rate etwas darunter bei 42,5 % (30).

Gegenüber der eigenen Studie sind die Werte etwas niedriger, was dadurch erklärt werden kann, dass in der eigenen Studie Metamizol über einen längeren Zeitraum hinweg mehrmals täglich und in höheren Dosierungen angewendet wurde. So lag die Dosierung von Metamizol bei Polzin et al. bei 0,5 bis 3 g/d und orientierte sich am individuellen Analgetikabedarf. In der eigenen Studie hingegen folgte die Dosierung der aktuellen Leitlinie zur analgetischen Therapie mit Tagesdosen von 1,5 bis 4 g/d. Insofern scheint die Rate der *ASS-Non-Response* unter Metamizol einer Dosisabhängigkeit zu unterliegen.

Dementsprechend beschrieben Dannenberg et al. innerhalb ihrer Studienpopulation auch einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen der Rate an *ASS-Non-Response* und der täglich eingenommenen Metamizoldosis. So lag die Rate an *ASS-*

Non-Response bei einer Tagesdosis < 1 g bei nur 20 %, bei einer Dosis > 3 g/d jedoch bei 50 % (30).

Interessanterweise konnten Polzin et al. eine Korrelation zwischen der thrombozytären Thromboxansynthese (TXB₂ im Überstand aktivierter Thrombozyten) und der Höhe der Summe der Metamizol-Metaboliten (MAA, AA, AAA) zeigen. In der eigenen Untersuchung stand lediglich die Anwesenheit von Metamizol-Metaboliten mit dem Eintreten der Interaktion in statistisch signifikantem Zusammenhang. Eventuell lag dies daran, dass bei den höheren Einzeldosierungen, die in dieser Studie an Patienten im Rahmen der Behandlung nach Schmerzschema deutlich höher waren als in der Untersuchung von Polzin et al., größere zeitabhängige Schwankungen der Konzentrationen auftraten, was einen statistischen Zusammenhang überlagert haben könnte.

Unabhängig davon verweisen auch andere Studiendaten auf mögliche krankheitsbedingte Differenzen im ASS-Ansprechen der Thrombozyten unter Metamizoltherapie. Bei Patienten nach Gefäßoperationen war der Anteil von ASS-*Non-Response* in der Gruppe der Bypassoperationen mit 80 % sehr hoch, im übrigen Patientenkollektiv hingegen mit 33 % nur moderat ausgeprägt (184).

Dannenberg et al. stellten eine Prävalenz von 62 % bei Schlaganfallpatienten unter ASS und Metamizol fest (27). Auch hier fällt die hohe Prävalenz der ASS-*Non-Response* bei Patienten mit zerebrovaskulärer Erkrankung auf. Auch in der vorliegenden Studie befanden sich in der Gruppe der ASS-*Non-Responder* signifikant mehr Schlaganfallpatienten ($p < 0,05^*$) (Tabelle 8).

Ob bezüglich der Krankheitsentität Unterschiede in der Prävalenz der ASS-*Non-Response* unter Metamizoltherapie bestehen, und insbesondere ob Schlaganfallpatienten ein höheres Risiko für ASS-*Non-Response* aufweisen, kann eine interessante Fragestellung für Folgestudien darstellen. Bekannt ist, dass therapierelevanter Schmerz ein häufiger Zustand bei Schlaganfallpatienten ist (ca. 65 %) (139), sodass auch die Schmerztherapie an sich ein Risikofaktor und Erklärungsansatz für die hohe Rate an ASS-*Non-Response* sein kann.

Möglich ist auch, dass die Schwere einer Erkrankung als eigenständiger Risikofaktor für eine persistierende Thrombozytenfunktion unter ASS steht. Eine Studie von Schoergenhofer et al. zeigte eine Prävalenz der ASS-*Non-Response* von beeindruckenden 85 % bei kritisch kranken Patienten (185).

Jedoch kann hier auch mit einfließen, dass bei kritisch kranken Patienten häufiger die parenterale Medikation bevorzugt wird, da die enterale Resorption großen Schwankungen unterliegt (186). Dannenberg et al. konnten mit 87,5 % (vs. 37,5 % orale Applikation) ein besonders hohes Interaktionspotential für die parenterale Gabe von Metamizol nachweisen (30).

4.2 Interaktion von Metamizol und ASS an der Cyclooxygenase-1 (COX-1) und ihr Mechanismus

Vorversuche an PRP und Vollblut von gesunden Spendern ergaben eine vollständige Hemmung der ARA-induzierten Thrombozytenaggregation und signifikante Hemmung der TXB₂-Freisetzung bei einer ASS-Konzentration von 100 µM (s. Abb. 8 und 9). Einzelne Probanden zeigten auch schon unter 30 µM ASS eine vollständige Aggregationshemmung. MAA bewirkte in Konzentrationen ab 1 µM eine Abschwächung oder Aufhebung der Thrombozytenhemmung durch ASS (30 µM) (s. Abb. 14), wobei eine höhere Konzentration von MAA erforderlich war, um mit der Hemmung durch ASS in höherer Konzentration (100 µM) zu interferieren (Abb. 11). Zur Analyse des zeitlichen Verlaufes der Thrombozytenhemmung durch ASS wurden zeitkinetische Experimente mit PRP und Citrat-Vollblut durchgeführt (Abb. 15-18). Diese Experimente bestätigten auch im zeitlichen Verlauf die Interaktion von MAA mit der Hemmung durch ASS, und zwar sowohl hinsichtlich der Aggregationshemmung als auch der Hemmung der thrombozytären Thromboxansynthese. Besonders eindrucksvoll war dies bei Verwendung von 5 µM ASS im Vollblut, was der maximalen Plasmakonzentration von ASS nach Gabe von 100 mg ASS beim Menschen entspricht (53). Dies ist in den Abbildungen 17 und 18 dargestellt.

Die Interaktionsmechanismen zwischen Metamizol bzw. dessen aktivem Metaboliten MAA und ASS sind bisher noch nicht vollständig geklärt.

Bereits 1983 wurde gezeigt, dass ein essentieller Mechanismus der analgetischen Wirkung von Metamizol auf der Prostaglandin E₂ (PGE₂)-Hemmung durch COX-Inhibition beruht. Im Gegensatz zu ASS bindet Metamizol jedoch reversibel an COX-1 (187). Interessanterweise wurde *in vitro* an humanen Thrombozyten (COX-1) und Leukozyten (COX-2) festgestellt, dass Metamizol COX-2 stärker supprimiert als COX-1 (188). Auch bedarf die Hemmung von COX-1 höherer Metamizol-Konzentrationen als die Hemmung von COX-2 (131). Gemäß Meek et. al und Ouellet

et al. könnte eine stärkere Affinität zur COX-2 mit einem niedrigeren Interaktionspotential an der COX-1 einhergehen (20,45). Die vorliegende Studie zeigte bei 21 von 27 Patienten unter Metamizol eine persistierende Thrombozytenfunktion, was das Konzept von Meek et al. nicht bestätigt und ein sehr hohes Interaktionspotential von Metamizol signalisiert. Die Affinität zur COX-1 und seinen Isoenzymen scheint demnach für das Interaktionspotential mit ASS weniger ausschlaggebend zu sein.

Hohlfeld et al. und Saxena et al. konnten anhand klinischer und experimenteller Studien herausarbeiten, dass ASS und Metamizol möglicherweise an der COX-1 Bindungsstelle im hydrophoben Kanal des Enzyms miteinander konkurrieren (Abb. 24).

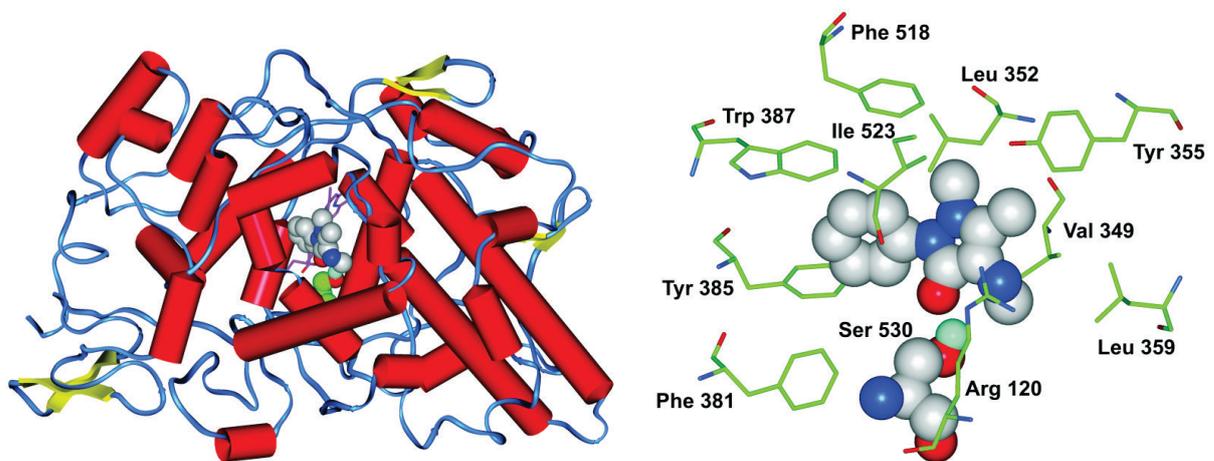


Abb. 24: Kristallstruktur der Cyclooxygenase-1 (COX-1) mit Bindung von 4-Methylaminoantipyrin (MAA) im hydrophoben Kanal .

Links: COX-1 Monomer mit im hydrophoben Kanal gebundenem 4-Methylaminoantipyrin (MAA). Rote Säulen: α -Helices, gelbe Pfeile: β -Stränge, blaue Bänder: Peptidgerüst. Der Ligand MAA ist dargestellt als Kalottenmodell.

Rechts: Detailansicht aus A, welche die Bindung von MAA im hydrophoben Kanal zeigt. Aminosäuren der Bindungsstelle: grün, MAA und Serin 530 sind als Kalottenmodell dargestellt, Kohlenstoffatome (weiß), Wasserstoffatome (blau) Sauerstoffatome (rot); Wasserstoffatom des Serin 530, welches eine Wasserstoffbrücke mit dem Kohlenstoff von MAA ausbildet (türkis). Ins Deutsche übersetzt aus (25). Abkürzungen: Arg: Arginin, COX-1 = Cyclooxygenase-1, Ile = Isoleucin, Leu = Leucin, MAA = 4-Methylaminoantipyrin, Phe = Phenylalanin, Ser = Serin, Trp = Tryptophan, Tyr = Tyrosin, Val = Valin.

Mechanistisch ist möglicherweise die Ausbildung von Wasserstoffbrücken zwischen Aminosäuren innerhalb des Substratkanals der COX-1 entscheidend für die Kapazität mit ASS zu interagieren (24). Insbesondere die Wasserstoffbrückenbildung zwischen den Aminosäuren Ser530, Arg120 sowie Tyr385 könnte für eine sterische Zugangsbehinderung zum Substratkanal verantwortlich sein. Für dieses Modell spricht, dass MAA, der aktive Metabolit von Metamizol, tatsächlich

Wasserstoffbrücken mit Tyr385 und Ser530 auszubilden vermag (24) (Abb. 24). Umgekehrt bilden die Analgetika Diclofenac und Paracetamol keine oder nur schwache Wasserstoffbrücken aus, gleichzeitig interagieren sie nicht mit ASS.

Interessant sind hierzu auch Befunde von Börgermann et al.. Wurde Bypass-Patienten präoperativ ASS und post-operativ Metamizol verabreicht, so erhöhte sich der Anteil der *ASS-Non-Response* zeitabhängig von initial 24 % auf 55 % an Tag 1 post-OP und auf 65 % an Tag 7 post-OP. Der Anstieg an Tag 1 war dabei unabhängig davon, ob ASS weiter verabreicht wurde oder nicht (189). Zwei Erklärungsmöglichkeiten bieten sich an. Vorstellbar ist eine zunehmende Verdrängung von ASS durch Metamizol an COX-1 aufgrund ansteigender Metamizol-Serumspiegel (bzw. Anstieg dessen Metaboliten). Die Tatsache, dass, wie auch in der eigenen Studie, simultan appliziertes ASS dem Metamizol-Effekt nicht gegensteuern konnte, spricht gleichzeitig für eine unterschiedliche Bindungskinetik beider Substanzen. Tatsächlich ist die initiale Bindung von ASS an COX-1 nur sehr schwach ausgeprägt. Die Inhibitionskonstante (K_i) liegt im millimolaren Bereich (K_i ca. 27.000 $\mu\text{mol/l}$), (45,190), Metamizol hingegen weist mittlere K_i -Werte im mikromolaren Bereich auf (142). Hinzu kommt, dass ASS mit 15 - 20 Minuten eine wesentlich kürzere Plasma-HWZ als Metamizol und seine Metabolite hat (ca. 3,2 Stunden) (Vgl. Kapitel 1.4. und Kapitel 1.7.). Metamizol kann demnach wesentlich länger an COX-1 binden, während ASS rasch durch Esterasen zu Salicylsäure deacetyliert wird, welches keine COX-1 Hemmung mehr bewirkt (25,142) (s. Kapitel 1.4 und Abb. 3).

Die vorliegende Studie gibt einen Hinweis darauf, dass ein festes und hoch dosiertes Regime mit Metamizol mit einem hohen Risiko für eine Arzneimittelinteraktion einhergeht. So war die Rate an *ASS-Non-Response* mit 77,8 % im vorliegenden Patientenkollektiv bei Schmerzpatienten (diese Studie) im Vergleich zu 50 % bei KHK-Patienten, bei denen Metamizol nicht im Rahmen eines festgelegten Schmerzschemas verordnet wurde, deutlich höher (28).

Auf die Relevanz der Metamizoldosierung für *ASS-Non-Response* weist eine neue Studie an Patienten nach gefäßchirurgischen Eingriffen und eine Studie bei KHK-Patienten hin. So ergab sich unter Metamizol-ASS-Kombinationstherapie ein signifikanter Zusammenhang zwischen Metamizolspiegel und nachlassender ASS-Wirkung (30,184). Diese Korrelation ist allerdings nicht gegeben, wenn zuerst ASS

und dann Metamizol verabreicht wird (26), was zu erwarten ist, da ASS ein irreversibler COX-Inhibitor ist.

Wilczynski et al. berichten, dass die parenterale Gabe von Metamizol bei Patienten nach aortokoronarer Bypass-Operation die Wirkeffekte von ASS nicht unterbindet. Dies steht im Kontrast zu einer aktuellen Studie von Dannenberg et al., die unter parenteraler Verabreichung von Metamizol mit einer Häufigkeit von 87,5 % im Vergleich zu 37,5 % bei oraler Applikation ein besonders hohes Risiko für ASS-*Non-Response* sahen (30). Bei Wilczynski et al. wurde ASS höherdosiert als Bolus (300 mg) und nachfolgend in einer ebenfalls höheren Konzentration von 150 mg/d verabreicht (191). Unabhängig von der im Vergleich zu anderen Studien höheren ASS-Dosis ist die Gabe von Metamizol allerdings erst 3 Stunden nach der Gabe von ASS erfolgt, also zu einem Zeitpunkt, wo von einer irreversiblen Hemmung der thrombozytären COX-1 auszugehen ist. Polzin et al. konnten in diesem Zusammenhang darstellen, dass sich durch die Sequenz der Substanzeinnahme die unerwünschte Medikamenteninteraktion vermeiden lässt. So bleibt bei Gabe von ASS 30 Minuten vor der Einnahme von Metamizol die thrombozytäre Hemmung durch ASS bestehen. Umgekehrt dominiert bei Einnahme von Metamizol 30 Minuten vor der Einnahme von ASS der Metamizoleffekt (keine Aggregationshemmung) (26). Da bei Wilczynski et al. die zudem höher gewählte ASS-Dosis ganze 3 Stunden vor Metamizol verabreicht wurde, sind hier eher die Beobachtungen von Polzin et al. bestätigt, als die Ursache für die anhaltende Aggregationshemmung in der parenteralen Applikationsform von Metamizol zu sehen.

Prinzipiell kann nach dem Absetzen von Metamizol und Abfall der Plasmakonzentration die Wirkung einer neuen Dosis ASS wieder eintreten. So konnte eine weitere Studie zeigen, dass die Interaktion zwischen *low-dose* ASS (100 mg/d) und Metamizol (750 mg/d) reversibel ist. Nach 7 Tagen Komedikation mit Metamizol und anschließendem Absetzen für 3 Tage konnte hier unter ASS wieder eine vollständige Hemmung Thrombozytenaggregation ausgelöst werden. Dies verdeutlicht, dass mechanistisch keine irreversible Konformationsänderung am aktiven Zentrum der COX-1 zum Wirkverlust von ASS führt, was naheliegend ist, da Metamizol reversibel an die COX-1 bindet (Kapitel 1.6. und Kapitel 1.7.). Das Intervall von 3 Tagen wurde von den Autoren der Studie vermutlich so gewählt, dass dessen Plasmakonzentration auf nahezu Null gefallen ist. In dieser Studie war die Dosis von Metamizol mit 750 mg/d entsprechend 1 ½ Tabletten oder 30 Tropfen/d

sehr niedrig gewählt worden, sodass diese Information nur eingeschränkt auf den klinischen Alltag übertragen werden kann (26). Diese Dosis reflektiert, bei einer in der Fachinformation empfohlenen Einzeldosis ab 500 mg, eine Tagesdosis und dürfte nur unzureichend auf Patienten mit chronischen Schmerzen zutreffen, die Metamizol nach einem vorgegebenen Schema in höherer Dosierung einnehmen. Zudem war hier die Probandenzahl mit 4 Probanden sehr klein. Weitere Studien mit der Fragestellung, ab wann *low-dose* ASS nach dem Absetzen von Metamizol wieder seine antithrombozytäre Wirkung entfalten kann, wären insofern wünschenswert.

4.3 Interaktion von nichtsteroidalen Antirheumatika (NSAID) mit ASS an der Cyclooxygenase-1 (COX-1)

Die Arzneimittelinteraktion an der COX-1 ist nicht auf die Konkurrenz zwischen Metamizol und ASS limitiert. Rao et al. beobachteten bereits 1983, dass die Thrombozytenfunktionshemmung durch ASS ausbleibt, wenn zuvor Ibuprofen, ebenfalls ein Nichtopioid-Analgetikum, verabreicht wird. Analog zu den in Kapitel 4.2 beschriebenen Studien zur Interaktion mit Metamizol konnte dieser unerwünschte Nebeneffekt umgangen werden, wenn Ibuprofen mindestens 2 Stunden nach der Einnahme von ASS gegeben wurde (16,18). Postuliert wurde auch in dieser Studie eine Blockade der COX-1-Bindungsstelle durch Ibuprofen (15,24,140,142).

Gengo et al. untersuchten 2008 die zeitlichen Zusammenhänge der Interaktion zwischen ASS und Ibuprofen und bestätigten, dass ASS in Anwesenheit von Ibuprofen nicht die COX-1 acetylieren kann und somit der Zeitraum einer potentiellen Interaktion durch die HWZ von Ibuprofen bestimmt wird (192). Diese ist mit 1,8 bis 2 Stunden länger als die von ASS. Die HWZ von Metamizol ist mit 3,2 Stunden noch länger, was das Interaktionspotential gut widerspiegelt (130,193).

Bei der Interpretation der Daten ist allerdings zu berücksichtigen, dass die HWZ der jeweils konkurrierenden Substanzen nicht ausschließlich die Bindungssituation an der COX-1 festlegt. Dass eine längere HWZ nicht zufriedenstellend das Interaktionspotential mit ASS widerspiegelt, zeigt sich z.B. daran, dass Piroxicam mit der wohl längsten HWZ der NSAID von ca. 50 h (194) zwar mit ASS interagiert (24), Meloxicam, ein anderer Vertreter der sogenannten „Oxicame“ mit einer immer noch sehr langen HWZ von ca. 20 h (195) jedoch nicht (20). Folglich müssen noch andere Faktoren für die Wechselwirkung in Betracht gezogen werden. Meloxicam ist als mäßig selektiver COX-2-Inhibitor beschrieben, seine Affinität zu COX-1 ist geringer.

Dies spricht dafür, dass die Medikamenten-Interaktion vornehmlich COX-1 spezifisch ist. Dementsprechend berichteten Meek et al., dass bei Wirkstoffen mit höherer COX-1- als COX-2-Affinität das Potential mit ASS zu interagieren ebenfalls höher ist (20).

Celecoxib, ein Wirkstoff aus der Gruppe der COX-2 selektiven Inhibitoren, mit jedoch noch vorhandener inhibitorischer Wirkung auf COX-1 (IC_{50} (= mittlere inhibitorische Konstante) $15 \mu\text{M}$ für COX-1 vs. $IC_{50} = 8,3 \mu\text{M}$ für COX-2) (141,196), vermag die COX-1-Inhibition von ASS ebenfalls abzuschwächen (24,197). Rimon et al. postulierten einen Interaktionsmechanismus, welcher sich von der reinen Konkurrenz um Bindungsstellen im Substratkanal unterscheidet. Neben einer sterischen Blockade beschrieben diese Autoren anhand kristallographischer Untersuchungen, dass die Interaktion von ASS mit Celecoxib durch eine Konformationsänderung der Enzymstruktur der COX-1 bedingt ist. Nach diesem Modell bedingt erst die Konformationsänderung der regulatorischen Untereinheit der COX-1 eine verminderte Acetylierung von Ser530 durch ASS (141). Dieser vermutete Interaktionsmechanismus unterscheidet sich somit essentiell von der in vielen anderen Untersuchungen postulierten Vorstellung einer Konkurrenz zwischen ASS und Metamizol an derselben Bindungsstelle.

4.4 Einfluss einer Konzentrationserhöhung von ASS auf die Interaktion von Metamizol und ASS

Eine Fragestellung der vorliegenden Dissertation war, ob möglicherweise die nachträgliche Zufuhr von ASS *in vitro* den Metamizoleffekt aufzuheben vermag.

In den Pilotstudien zur eigenen Studie konnte bei gesunden Probanden durch eine hohe Konzentration von ASS *in vitro* auch in Anwesenheit von MAA eine Aggregationshemmung erreicht werden. So konnte in Anwesenheit von Konzentrationen bis $10 \mu\text{M}$ MAA durch Zugabe von $100 \mu\text{M}$ ASS und darüber wieder eine vollständige Aggregationshemmung erzielt werden (Abb. 11). Es könnte sein, dass Metamizol nach dem Prinzip der kompetitiven Hemmung durch hohe ASS-Konzentrationen wieder von seiner Bindungsstelle verdrängt wird.

Nachträglich den Proben in der klinischen Studie zugesetztes ASS bewirkte allerdings keine zusätzliche Aggregationshemmung (Vgl. Abb. 21). Auch bei der Untersuchung von Polzin et al. konnte bei KHK-Patienten unter *low-dose* ASS-Behandlung und Metamizolgabe (0,5 bis 3 g/d) durch die nachträgliche Inkubation

mit ASS (30 μ M und 100 μ M) die Aggregation lediglich abgeschwächt werden, aber keine vollständige Aggregationshemmung erzielt werden (26). Die Tatsache, dass sich in dieser Studie jedoch die Aggregation durch nachträgliche Zufuhr von ASS abschwächen ließ, spricht für den kompetitiven Charakter. Insgesamt zeigen diese Ergebnisse, dass Metamizol ein sehr potent mit ASS interagierender Wirkstoff ist.

Nicht zuletzt ist in Betracht zu ziehen, dass neben MAA auch weitere Metamizol-Metabolite die Effekte von nachträglich verabreichtem ASS supprimieren können. So besitzt gemäß Hohlfeld et al. der Metabolit 4-Aminoantipyrin (AA) das Potential zur Interaktion mit ASS an der COX-1 Bindungsstelle, jedoch erst in mehr als 10-fach höherer Konzentration als MAA (25).

Maximale Plasmaspiegel von AA liegen, je nach Dosis von Metamizol (500 mg bis 1000 mg), nach 3,1 bis 5,2 Stunden vor, die HWZ beträgt 6,3 bis 5,7 Stunden (130). Es ist somit nicht auszuschließen, dass auch dieser Metabolit zum oben beschriebenen Phänomen, sowie auch zu der deutlich höheren Rate an *ASS-Non-Response* im Vergleich zu Studienergebnissen anderer Arbeitsgruppen zumindest beigetragen hat.

4.5 Ursachen variierender und erhöhter Thromboxansynthese

Die Thromboxansynthese kann unter ASS beträchtlich variieren. So zeigten KHK-Patienten die bereits einen Myokardinfarkt erlitten hatten, unter *low-dose* ASS höhere TXB₂-Serumwerte und Aggregationslevel als KHK-Patienten ohne Infarktgeschehen (198). In einer Studie von Niccoli et al. war analog dazu das Serum-TXB₂ bei Patienten mit Myokardinfarkt unter *low-dose* ASS Therapie ebenfalls positiv mit dem Schweregrad der koronaren Atherosklerose assoziiert (199).

In der vorliegenden Studie waren ebenfalls deutliche interindividuelle Unterschiede der TXB₂-Synthese nachweisbar. Auch die Schwellenwerte für die Aggregationseinleitung variierten in beiden Patientengruppen erheblich, mit Werten zwischen 10 und 100 ng/ml. Vermutlich ist die unterschiedliche Sensibilität auf Thromboxan als Stimulus neben anderen Faktoren auch von der Dichte der Thromboxanrezeptoren und individuell variabler intrazellulärer Signaltransduktion abhängig. So beschrieben Katugampola et al. eine erhöhte Dichte an Thromboxanrezeptoren und hierdurch auch mögliche erhöhte Sensibilität auf Thromboxan als Stimulus, aber auch erhöhtes Maß an Plättchenaktivierung in

atherosklerotisch veränderten Gefäßen, sodass die stark variierenden Thromboxankonzentrationen in der Studiengruppe ein möglicher Ausdruck der unterschiedlichen Erkrankungsschwere sein können (200). Dorn et al. beschrieben eine besonders hohe Anzahl an Bindungsstellen am Thromboxanrezeptor im akuten Myokardinfarkt im Vergleich zur stabilen KHK. Sie stellten auch einen Zusammenhang zwischen der Höhe der maximalen Tangentensteigung und der Anzahl an Thromboxanrezeptoren her (201). Im akuten Myokardinfarkt ist zudem die Bindungskapazität und somit Sensitivität auf Prostazylin (PGI₂), einem starken endogenen Thrombozyteninhibitor, herabgesetzt (202). Daher wird gemäß aktueller Leitlinien neben ASS in Hochrisikosituationen noch ein weiterer Thrombozytenfunktionshemmer mit anderem Wirkmechanismus (P2Y₁₂-Antagonist, GP IIb/IIIa-Inhibitor) eingesetzt (s. Tabelle 1).

4.6 Einfluss von Metamizol auf die Thromboxansynthese

Da auch Metamizol ein Inhibitor der COX ist, wäre auch ein additiver Effekt von Metamizol und ASS auf die COX-1-Hemmung denkbar. Tatsächlich vermag MAA bei einer berechneten Serumkonzentration von 1,03 µmol/l eine 50 %-ige Hemmung des COX-1 Enzyms zu induzieren (130). Da in der vorliegende Studie die Plasmakonzentrationen von MAA stets in einem Bereich > 5 µM lagen, wäre eine COX-1 Hemmung also möglich (Tabelle 10). In den Pilotstudien an gesunden Probanden bewirkte MAA in Konzentrationen von 0,3 bis 30 µM keine signifikante Reduktion der Aggregation und der Thromboxansynthese unter ARA-Stimulation. Unter Zugabe von 1 µM MAA kam es sogar zu einer dezenten Zunahme der TXB₂-Konzentrationen. In Gegenwart von 30 µM MAA nahmen die TXB₂-Konzentrationen nach ARA-Stimulation im Mittel gar um 12,33 % zu. Die Veränderungen waren nicht signifikant, demonstrieren jedoch, dass unter Metamizol wahrscheinlich keine distinkte Blockade von COX-1 ausgelöst wird (s. Kapitel 3.1.1.2).

In Übereinstimmung mit den hier vorgelegten Resultaten konnte auch in anderen Studien die Zugabe von 10 µM MAA bei Probanden unter ASS-Therapie keine weitere Inhibition der Aggregation und Thromboxansynthese auslösen (25,26). Aus diesem Grund ist auch davon auszugehen, dass Metamizol keinen positiven Einfluss auf kardiovaskuläre Ereignisse besitzt.

Bei der Interpretation ist zu berücksichtigen, dass Metamizol auf die COX-1 und COX-2 Isoformen einwirkt, wobei die COX-2 bereits bei niedrigeren Konzentrationen inhibiert wird (130). ASS hingegen wirkt in niedriger Dosierung primär auf COX-1 (203). Zudem handelt es sich bei ASS um einen irreversiblen Inhibitor der COX-1, wohingegen Metamizol, wie auch andere NSAID, nur eine reversible und kurz andauernde COX-Inhibition induzieren. Durch das reversible Bindungsverhalten an COX-1 besteht die COX-Hemmung nur für den Zeitpunkt hoher Wirkstoffspiegel am Zielort und ist somit von der HWZ des Wirkstoffs abhängig. Aufgrund einer nur geringen COX-Affinität und auch nur kurzen HWZ von Metamizol (bzw. dessem aktiven Metaboliten MAA) kann die unter Thrombozytenaggregation in hoher Konzentration freigesetzte ARA die Hemmung der COX-1 durch Metamizol wahrscheinlich überwinden (142). Die reversible Interaktion zwischen Metamizol bzw. seinem Hauptmetaboliten MAA und der COX-1 ist für eine lang anhaltende Thrombozytenaggregationshemmung auch nicht ausreichend. So zeigten Eldor et al. eine Inhibition der Thromboxansynthese maximal eine Stunde nach Aufnahme von 1 g Metamizol, die anschließend jedoch rasch abklang (204).

Ob und bei welcher Dosierung Metamizol möglicherweise permanent auf die Thromboxanproduktion und Aggregationshemmung einzuwirken vermag, sollten weitere Studien klären. Die Forschungsgruppen von Hartinger et al. und auch Dannenberg et al. berichteten kürzlich von einer negativen Assoziation zwischen Metamizol-Dosierung und ASS-Ansprechen (30,184). Damit ist nicht zu erwarten, dass Metamizol in thrombozytenhemmenden, höheren Dosierungen vor der unerwünschten Interaktion mit ASS schützt oder die Thrombozytenfunktionshemmung durch ASS ersetzt.

In den eigenen Untersuchungen nahm MAA in einer Konzentration bis 30 μ M in den Pilotstudien keinen relevanten Einfluss auf die Aggregation und gemessenen TXB₂-Spiegel im arachidonsäurestimulierten PRP (s. Kapitel 3.1.1.2). Unter Kollagenstimulation hingegen zeigte sich eine Suppression der Thromboxansynthese, welche für die Zugabe von 30 μ M des kompetitiven COX-Inhibitors MAA statistische Signifikanz zeigte (s. Kapitel 3.1.2. und Abb. 13). Ein signifikanter Einfluss auf die Aggregation stellte sich jedoch nicht dar. Diese Beobachtung beruht wahrscheinlich darauf, dass die Aggregation durch Kollagenstimulation weniger Arachidonsäure mobilisiert als bei Stimulation mit exogen zugesetzter ARA eingesetzt wird. Entsprechend sind niedrigere

Konzentrationen von MAA ausreichend um einen Effekt auf die Thromboxansynthese zu zeigen.

Ein protektiver Effekt höherer Metamizoldosierungen auf die kardiovaskulären Risiken ist auf dem Boden der obigen Erklärungen jedoch nicht zu erwarten, sondern hohe Metamizoldosierungen mit einem höheren Interaktionspotential mit *low-dose* ASS assoziiert (s. Kapitel 4.2., Daten der eigenen Studie) (27,184,205).

4.7 Plasmaspiegel der Metamizolmetaboliten

Innerhalb der Patientengruppe unter Schmerzmedikation mit Metamizol ließen sich Metamizolmetaboliten im mikromolaren Bereich nachweisen. Dies waren vorrangig AAA, MAA und in deutlich niedrigerer Konzentration AA. Eine Korrelation zwischen der Höhe der gemessenen Plasmaspiegel und der Thrombozytenfunktion ließ sich jedoch nicht herstellen.

Die erhebliche Streubreite der Plasmaspiegel beruht wahrscheinlich auf interpersonellen pharmakokinetischen Unterschieden und auf der relativ kurzen HWZ der Metamizolmetaboliten (s. Kapitel 1.7.). Zudem folgt die Metabolisierung von Metamizol einer nicht linearen Pharmakokinetik. So ist nach wiederholter Gabe die Clearance von MAA um 22 % herabgesetzt. Bei der Interpretation der Daten ist auch zu berücksichtigen, dass die Demethylierung von MAA bei Langsam-Acetylierern (ca. 50 % in der mitteleuropäischen Bevölkerung) durch genetische Variationen des N-Acetyltransferase (NAT) -2-Gens herabgesetzt ist (206). Die Ratio zwischen Langsam- und Schnell-Acetylierern wurde in der vorliegenden Studie nicht bestimmt, so dass hierzu keine nähere Aussage getroffen werden kann. Aufgrund der Bedeutung der Acetylierung für den Metabolisierungsprozess von Metamizol wäre jedoch ein weiterer Forschungsansatz zu prüfen, ob es einen Zusammenhang zwischen dem Therapieansprechen auf *low-dose* ASS und der Substratacetylierung von Metamizol gibt. Die verlangsamte Umsetzung von Metamizol zu MAA wurde auch auf nicht funktionelle Allele des Cytochrom P450 2C9 (CYP2C9)- und Cytochrom P450 2C19 (CYP2C19)-Gens zurückgeführt (206).

Unter mehrmaliger Einnahme ist die Clearance von Metamizol um 22 % herabgesetzt (133), bei älteren Patienten kann sie generell um bis zu 33 % reduziert sein (133), sodass unter Berücksichtigung der mittleren HWZ von MAA von 2,6 bis 3,5 Stunden eine Kumulation von Metamizolmetaboliten nicht auszuschließen ist und auch hierin

Unterschiede in den Plasmaspiegel begründet sein können. In der vorliegenden Studie zeigte sich kein signifikanter Einfluss des Alters auf die Höhe oder Verteilung der Plasmaspiegel der Metamizolmetabolite. Die Diskrepanz in der Aussage beruht möglicherweise auf dem kleinen Studienkollektiv, dessen Resultate nicht immer eine statistisch hinreichende Aussage erlaubten. Zugleich charakterisierte sich die Patientengruppe durch eine recht homogene Altersverteilung. In der Tat betrug der Altersmedian ca. 70 Jahre, mit den Extremwerten von 45 bzw. 88 Jahren. Jüngere Patienten waren nicht in die Studie eingeschlossen.

4.8 Weitere Ursachen für *ASS-Non-Response* und ihre Bedeutung für die Studienergebnisse

Neben Arzneimittelinteraktionen sind zahlreiche andere Ursachen für *ASS-Non-Response* beschrieben, wovon hier einige unter Erläuterung der Frage aufgeführt werden, ob sie zu der hohen Rate an *ASS-Non-Response* in der Studiengruppe unter Metamizoltherapie beigetragen haben können.

Der kurzen HWZ von ASS (15 – 20 Minuten) steht ein intensiver Thrombozyten-*Turnover* mit kontinuierlicher Neusynthese gegenüber. Entsprechend können neu gebildete Thrombozyten, aber auch Thrombozytenvorstufen, im Dosierungsintervall von ASS nicht inhibiert werden. Vier bis 6 Stunden nach ASS-Gabe sind entsprechend wieder Thrombozyten mit ungehemmter COX-1 nachweisbar. Der Anteil dieser „ASS-naiven“ Thrombozyten steigt mit der Geschwindigkeit ihrer Syntheserate (207,208) und stellt somit mögliche Triggerfaktoren für eine *ASS-Non-Response* dar (209,210). Nach Operationen aber auch bei Diabetes mellitus besteht ein erhöhter Thrombozyten-*Turnover* (211–213). Zudem ist auch bekannt dass der Anteil retikulierter Thrombozyten, als Maß für den Thrombozyten-*Turnover*, eng mit atherosklerotischen Ereignissen gekoppelt ist (214–216). In der vorliegenden Studie fanden sich viele postoperative Patienten, ebenso wie Patienten mit einem Diabetes mellitus Typ 2. Ein erhöhter Thrombozytenumsatz in dieser Patientengruppe ist daher prinzipiell denkbar. Der Anteil an Diabetikern in Studiengruppe 2 (nur ASS Behandlung) betrug 40 %. Dennoch zeigte nur ein Patient in dieser Gruppe eine *ASS-Non-Response*, welcher zudem nicht an Diabetes litt. Es gibt daher in der vorliegenden Untersuchung keinen Anhaltspunkt für einen Zusammenhang zwischen *ASS-Non-Response* und *Turnover* von Thrombozyten.

Auch eine verminderte Bioverfügbarkeit von *low-dose* ASS wurde als Ursache für *ASS-Non-Response* beschrieben. So ist die Bioverfügbarkeit von ASS mit 45 – 50 % nicht nur gering, sondern schwankt auch sehr. Dies kann u.a. durch die galenische Formulierung (sog. „*enteric coating*“ oder Retard-Formulierung) (217–219), aber auch durch ein unterschiedliches Verteilungsvolumen (z.B. bei Obesitas), durch eine beschleunigte metabolische Inaktivierung (z.B. Diabetes oder Hypercholesterinämie) (220,221) oder vermehrten Transport aus der Zelle heraus z.B. über eine Überexpression von *Multidrug resistance protein 4* (MRP4), welches insbesondere nach Bypass-Operationen und unter langjähriger ASS-Einnahme vermehrt exprimiert wird, erklärt werden (222–225). Hohlfeld et al. konnten die Interaktion von MAA und ASS jedoch auch im zellfreien Ansatz mit mikrosomaler COX-1 nachweisen, sodass die Interaktion zwischen Metamizol und ASS nicht durch pharmakokinetische Interaktionen an Konkurrenz um Transportmechanismen erklärt werden kann (25). Inwieweit sich dieser Befund auf die Patientensituation übertragen lässt, insbesondere unter Langzeit ASS-Einnahme oder bei Bypass-Patienten, ist nicht klar. Gemessene Plasmaspiegel von ASS sagen nur wenig über die Wirkung aus, da ASS seine antithrombozytäre Wirkung teils bereits im Pfortaderblut entfaltet und die höchsten Wirkstoffspiegel im Dünndarm vorliegen (226,227). Festzuhalten bleibt, dass eine nachträgliche Inkubation mit ASS *in vitro* im Sinne einer Steigerung der Bioverfügbarkeit von ASS in Patientengruppe 1 und 2 keine Aggregationshemmung induzierte. Zudem war die Interaktion auch in den Pilotstudien in denen die Zufuhr von ASS *ex vivo* erfolgte, reproduzierbar, sodass eine mangelnde Bioverfügbarkeit von ASS hier nicht als Erklärung für *ASS-Non-Response* in Frage kommt. Unter dem angegebenen Versuchsdesign ist somit eine zu niedrige Bioverfügbarkeit von ASS als (Teil-)Ursache für eine *ASS-Non-Response* auszuschließen.

Auch eine mangelnde Therapieadhärenz kann für ein schlechtes oder fehlendes Ansprechen auf *low-dose* ASS verantwortlich gemacht werden (12,228–230). Vor allem gastrointestinale Nebenwirkungen wurden als eine Ursache für eine *Noncompliance* bezüglich *low-dose* ASS beschrieben, traten jedoch besonders in den ersten Tagen der Therapie auf (231,232). Die Patienten der aktuellen Studie haben ASS bereits über einen langen Zeitraum eingenommen, sodass neu aufgetretene unerwünschte Wirkungen durch die antithrombozytäre Therapie mit ASS als Ursache einer *Noncompliance* sehr unwahrscheinlich sind. Kein Patient brach die Studie aufgrund von Nebenwirkungen ab. Ein Monitoring der Therapieadhärenz, beispielsweise mittels Einnahmeüberwachung oder

Patienteninterview, erfolgte im Rahmen der vorliegenden Studie nicht, weswegen eine sichere Aussage zur Patientencompliance nicht gemacht werden kann. Da aber in der Patientengruppe ohne Metamizoltherapie bei gleichzeitig ähnlicher Alters- und Komorbiditätsverteilung wie in der Patientengruppe unter Metamizol, eine nahezu vollständig supprimierte Thromboxansynthese bei 9 von 10 Patienten bestand, ist auch eine adäquate Therapieadhärenz in der Gruppe unter Metamizol zu erwarten.

Neben genetischen Polymorphismen als Ursache einer COX-1-Dysfunktion und einer *ASS-Non-Response* (233–237) wird auch eine COX-1 unabhängige Thrombozytenaktivierung durch alternative Aktivierungswege als Ursache für *ASS-Non-Response* beschrieben (238). Die Thrombozytenaktivierung über Thrombinbindung an die Protease-aktivierten-Rezeptoren 1 und 4 (PAR1/PAR4) oder aber die Aktivierung über den P2Y₁₂-Rezeptor durch ADP-Bindung wird durch eine Aspirintherapie nicht beeinflusst (238,239) (Vgl. Abb. 1). Entsprechend wird in Hochrisikosituationen (z.B. STEMI) neben einer Therapie mit ASS und Heparin, auch die Gabe von P2Y₁₂-Antagonisten gemäß aktueller Leitlinien empfohlen, um auch die Aktivierung der zweiten *Feedback*-Schleife der Thrombozytenaktivierung zu unterbinden (Evidenzgrad IA, periprozedural oder postprozedural bei primärer PCI) (240). Auch die Thrombozytenaktivierung durch physikalische Einflüsse wie Scherstress wird durch ASS nicht, oder erst in hohen Dosen (600 mg), beeinflusst (241,242). Da in der Studie jedoch mit der ARA induzierten LTA und TXB₂-Synthesemessung COX-1-selektive Messmethoden eingesetzt wurden, spielen Thromboxan-unabhängige Wege der Plättchenaktivierung für die Studienergebnisse keine Rolle, da sie durch die vorhandenen Messmethoden nicht miterfasst wurden.

Weiterhin stellen auch klassische Risikofaktoren für Atherosklerose wie Rauchen (243,244), Hyperlipidämie (245,246), arterielle Hypertonie (247–249) und Obesitas (220) einen Risikofaktor für *ASS-Non-Response* dar, standen jedoch in der Studie nicht in Zusammenhang mit der Häufigkeit an *ASS-Non-Response*. Besonders bei insulinpflichtigem Diabetes mellitus (250,251) oder insuffizienter metabolischer Kontrolle (252–254) wird in Studien eine hohe Rate an *ASS-Non-Response* beschrieben. Als Ursachen werden unter anderem neben einer endothelialen Dysfunktion mit verminderter Freisetzung von antiaggregatorischem Stickstoffmonoxid (NO) und PGI₂ auch eine Glykierung von Proteinen, wodurch diese schlechter acetyliert werden können, genannt (255). In der Studiengruppe war Diabetes mit einem Anteil von ca. 40 % in beiden Gruppen eine häufige

Komorbidität, nahm aber keinen signifikanten Einfluss auf das Aggregationsverhalten oder die thrombozytäre Thromboxansynthese (s. Tabelle 7 und 8).

Entzündung und oxidativer Stress sind mit einer erhöhten Plättchenreagibilität und Thromboxan-unabhängigen Plättchenaktivierung verbunden (256–259). Durch freie Radikale wird eine COX-1-unabhängig ablaufende Reaktion katalysiert, in welcher Prostaglandin-Isomere, wie beispielsweise das bekannteste aus ARA gebildete 8-iso-Prostaglandin $F_{2\alpha}$ (8-iso-PG $F_{2\alpha}$), entstehen. Diese sogenannten Isoprostane können auch in Anwesenheit nur geringer Mengen physiologischer Thrombozytenstimuli (Kollagen, ADP, ARA) und COX-1 unabhängig zu einer Thrombozytenadhäsion, Aktivierung und Thromboxansynthese führen (260,261). So konnte ein direkter Zusammenhang zwischen dem Isoprostanspiegel und 11-Dehydro-Thromboxan B_2 (11-DH-TXB₂) im Urin bei KHK-Patienten nachgewiesen werden (262). Zudem sind erhöhte Isoprostanspiegel ebenso wie erhöhte 11-DH-TXB₂-Spiegel bei Patienten mit stabiler KHK mit einer schlechteren Prognose korreliert (263,264).

Während die COX-1 kontinuierlich exprimiert wird, handelt es sich bei der COX-2 um ein induzierbares Isoenzym, das bei Gesunden nur in weniger als 10 % der Thrombozyten nachweisbar ist, jedoch im Rahmen von Entzündungsprozessen oder auch nach aortokoronarer Bypass-OP vermehrt exprimiert wird (179,265–267). ASS hemmt auch die COX-2, hat zu ihr jedoch eine 166-mal niedrigere Affinität (268). Die COX-2 hingegen hat eine geringere Substratspezifität und kann neben ARA auch andere Fettsäuren metabolisieren (269). Produkte der COX-2-Reaktion sind ebenfalls das PGH₂, welches vorwiegend weiter zu PGI₂ metabolisiert wird, der COX-1 aber über transzellulärem Eicosanoidtransport auch als Grundlage für die Produktion von TXA₂ dienen kann. Es gibt jedoch überzeugende Anhaltspunkte dafür, dass der Anteil der COX-2 an der Thromboxansynthese mit nur ca. 2 % marginal ist (179,270). Der Anteil an COX-2 an der thrombozytären Thromboxansynthese wurde in der Studie daher nicht untersucht.

Das aktive (nicht-acetylierte) COX-1-Enzym kann in Endothelzellen und Zellen der Gefäßmuskulatur, aufgrund des in diesen Zellen vorhandenen Zellkerns nachgebildet werden (271,272), oder aber von Thrombozyten selbst trotz fehlendem Zellkern nach Stimulation mit Thrombin mit Hilfe sogenannter Spliceosomen aus COX-mRNA (entspricht *COX-messenger-RNA* (COX-Botenribonukleinsäure)) nachproduziert werden (273). Thrombozyten können auch aus Zellen der Gefäßmuskulatur unter

Umgehung der COX-Reaktion PGH_2 als Substrat für die Thromboxansynthese verwenden (274,275). Inwiefern diese Art der Thromboxansynthese einen relevanten Beitrag zu *ASS-Non-Response* darstellt ist bisher unbeantwortet.

In der vorliegenden Studie wurde PRP verwendet, sodass zumindest ab dem Zeitpunkt der Zentrifugation keine Interaktionen mit Entzündungszellen oder Endothelzellen in Blut oder Gefäßwand mehr eingetreten sein können, die zu einer vermehrten Aktivität der COX-2 oder einem transzellulären Prostaglandintransport geführt haben können. Zudem wurde ARA als Stimulus im Überschuss zugeführt. Die Forschungsgruppe um Polzin setzte den Wirkstoff Terbogrel, einen kombinierten Thromboxan-Rezeptor- und Thromboxansynthese-Antagonisten, ein. Terbogrel hemmte in der Arbeit die Thrombozytenfunktion und Thromboxansynthese sowohl in An- als auch in Abwesenheit von Metamizol. Eine Interaktion konnte hier nicht nachgewiesen werden. Dies spricht dafür, dass die Interaktion auf der Ebene der thrombozytären COX-1 stattfindet (26). Auch in der vorliegenden Arbeit ist damit eine molekulare Interaktion von Metamizol und ASS an der COX-1 der Thrombozyten wahrscheinlich und COX-1 unabhängige Mechanismen als Erklärung für die Interaktion wahrscheinlich weniger bedeutend.

4.9 Mögliche klinische Bedeutung der Metamizol-ASS-Interaktion

Die Interaktion von ASS mit Metamizol kann schwerwiegende Komplikationen auslösen. Dannenberg et al. beobachteten in einer aktuellen Studie bei Schlaganfall-Patienten unter Komedikation mit ASS und Metamizol ein schlechteres neurologisches Outcome im Vergleich zu Patienten unter ASS-Monotherapie (27). Bei Patienten mit einer koronaren Herzkrankheit traten unter einer ASS-Metamizol-Kombinationstherapie signifikant häufiger ischämische Ereignisse, Myokardinfarkte und Schlaganfälle auf. Auch war die kumulative Mortalitätsrate gegenüber Patienten unter alleiniger ASS-Behandlung signifikant erhöht (29).

Auch bei pAVK-Patienten trat nach operativer Revaskularisation unter kombinierter ASS-Metamizol-Anwendung in 67 % der Fälle eine *ASS-Non-Response* auf. Diese Forschungsgruppe konnte zudem zeigen, dass das Risiko für *ASS-Non-Response* mit höheren Metamizol-Dosierungen anstieg. Ob diese Beobachtung auch mit einer schlechteren Perfusionsrate verbunden war, wurde nicht untersucht (184). Hier wären prospektive Folgestudien wichtig. Auch Dannenberg et al. konnten an 80

KHK-Patienten einen hochsignifikanten Zusammenhang zwischen der Dosierung von Metamizol und dem Auftreten einer *ASS-Non-Response* herstellen. Bei einer Dosis von > 3 g Metamizol am Tag trat in ca. 50 % eine *ASS-Non-Response* ein, bei Dosen < 1 g Metamizol am Tag hingegen nur bei 20 % der Patienten ($p < 0,0001$). Zudem sahen diese Autoren ein besonders hohes Risiko für die parenterale Verabreichung von Metamizol mit einer Häufigkeit von 87,5 % nach i.v.-Applikation und nur 37,5 % nach oraler Applikation ($p < 0,0001$).

Grundsätzlich ist die Datenlage zu möglichen Nebenwirkungen unter Metamizol-ASS noch unbefriedigend. Lediglich kleine Studien an verschiedenen Patientenkollektiven (KHK, ischämischer Schlaganfall) verweisen auf ein negatives klinisches *Outcome*. Prospektive Studien an größeren Kohorten und möglichst auch randomisierte kontrollierte Studien sind dringend notwendig, um die klinische Relevanz der Arzneimittelinteraktion weiter abschätzen zu können.

Aufgrund der seit Jahren steigenden Verschreibungszahlen von Metamizol und der Tatsache, dass ASS immer noch das am häufigsten eingesetzte antithrombozytäre Medikament ist, stellt die Arzneimittelinteraktion von Metamizol und *low-dose* ASS ein klinisch relevantes Risiko dar (276).

4.10 Kritische Betrachtung der angewendeten Methodik

Die vorliegende Studie wurde als Beobachtungsstudie an 27 Schmerzpatienten unter Metamizol und ASS (Interventionsgruppe) und 10 Kontrollpatienten (ASS ohne Metamizol) durchgeführt. Anhand dieser Kohorte konnte nachgewiesen werden, dass die Ergebnisse auch auf die klinische Praxis bei Schmerzpatienten mit einem festen Medikationsschema mit hoher Dosierung von Metamizol übertragbar sind. Die Studie griff gemäß ihrem Design nicht in den Behandlungsablauf ein. Ein- und Ausschlusskriterien wurden bewusst relativ weit gehalten, um das Studienkollektiv nicht unnötig einzugrenzen und trotz relativ kleiner Stichprobengröße eine ausreichende Repräsentativität der Patientenkohorte für die allgemeine klinische Situation zu gewährleisten. Aussagen zu Mortalität und Morbidität unter dem jeweiligen Therapieregime konnten allerdings nicht getroffen werden. Diesbezüglich wären eine größere Studiengruppe sowie ein prospektives Studiendesign über einen langen Beobachtungszeitraum einzufordern.

Die vorliegende Studie konzentrierte sich auf die COX-1-Funktion als pharmakodynamische Zielstruktur von ASS. Als Messmethode der Wahl dienten die ARA-induzierte Thrombozytenaggregation im plättchenreichen Citratplasma, sowie die ARA-induzierte Thromboxansynthese durch Messung von TXB₂ mittels RIA. Beide Verfahren vermögen die COX-1 Acetylierung (Inhibition) durch ASS sehr selektiv zu erfassen (277). Mit Thromboxan in Form seines inaktiven Metaboliten TXB₂ ist das Produkt der pharmakodynamischen Zielstruktur von ASS, nämlich des COX-1-Enzyms, nach Stimulation mit ARA einer Messung zugänglich. Damit stellt die TXB₂-Messung den pharmakologisch spezifischsten Funktionstest der COX-1-Aktivität dar. Aus diesem Grund hat die *European Agency for the Evaluation of Medicinal Products* (EMA, heute EMA) im Jahr 2002 Thromboxan als einzig validen Surrogatparameter für die Entwicklung von neuen ASS-Formulierungen zugelassen (278). Es könnte kritisch angemerkt werden, dass die Thromboxansynthese mittels TXB₂-Messung nicht die *in vivo*-Verhältnisse widerspiegelt, da es *in vitro* aus den PRP-Proben gemessen wird. Prinzipiell ließe sich die Thromboxansynthese auch über die Serum-TXB₂ Konzentration oder über mit dem Urin ausgeschiedenes 11-DH-TXB₂, einem stabilen Metaboliten von TXA₂, ermitteln (279). Letzterer wird auch als Prognosemarker eingesetzt, da er mit klinischen Ereignissen (Myokardinfarkt, Schlaganfall) und einer höheren Mortalität korreliert (154,280–282). Da in die Synthese von 11-DH-TXB₂ aber auch COX-1 unabhängig synthetisiertes TXA₂ miteinfließt, gibt dieser Marker zwar gut einen prothrombogenen Zustand wieder, kann aber nicht zwischen thrombozytärer Thromboxansynthese und extrathrombozytären Quellen differenzieren (39,283). In der vorliegenden Studie wurde daher das nach ARA induzierter Aggregation gebildete TXB₂ gemessen, sodass COX-1 unabhängige und COX-2 bedingte Thromboxanproduktion im Gegensatz zur Messung von 11-DH-TXB₂ nicht in die Analyse einfließen. ARA ist zudem ein COX-spezifischer Thrombozytenagonist (284).

Ergänzt wurden die Analysen durch die ARA-induzierte LTA als funktioneller Thrombozytenfunktionstest und Goldstandard in der Thrombozytenfunktionsmessung (165,285). Für beide Surrogatparameter konnte ein Zusammenhang zu klinischen Ereignissen (Myokardinfarkt) und zu einer höheren Mortalität unter *ASS-Non-Response* hergestellt werden (158,198,286,287). Bei Patienten mit stabiler KHK hingegen wird ein Zusammenhang zwischen dem Surrogatparameter Thromboxan und der Häufigkeit klinischer Ereignisse kontrovers diskutiert (162,163). Ferner bleibt anzumerken, dass durch den Zentrifugationsschritt für die PRP-Präparation unreife

und große Thrombozyten, Thrombozyten-Leukozyten-Aggregate, oder bereits aktivierte im Gefäßsystem adhärenente Thrombozyten aufgrund abweichender Zentrifugationseigenschaften nicht im PRP enthalten sein können. Diese Zelltypen besitzen ein hohes thrombogenes Potential und sind mit einer negativen Prognose verbunden (209,216,288,289). So kann es sein, dass die LTA unter Berücksichtigung der genannten Kritikpunkte, die thrombozytäre Kapazität zur Aggregation möglicherweise nicht exakt abbildet, wie sie im Patienten zu erwarten wäre. Für die Evaluation der COX-1 Funktion als Ort der Interaktion zwischen Metamizol und *low-dose* ASS ist sie unter Einsatz von ARA als Stimulus jedoch spezifisch und wahrscheinlich auch klinisch bedeutsam.

Kritisch zu werten ist, dass in der Studiengruppe die Latenz zwischen dem Einnahmezeitpunkt von ASS und der Blutentnahme > 45 Minuten betrug, sodass gemäß Zhou et al. zum Zeitpunkt der Probenanalyse ASS wahrscheinlich bereits zu einem beträchtlichem Maße hydrolysiert worden war (290). Auch kann angefügt werden, dass in der Patientenstudie im Gegensatz zu den Vorversuchen an Probanden nachträglich nur ASS-Konzentrationen bis maximal 100 µM zugesetzt wurden. Möglicherweise hätte hier eine weitere Dosiserhöhung auf 300 µM einen mit der Pilotstudie vergleichbaren Effekt erzeugt.

4.11 Ausblick und Therapiealternativen

Die hohe Rate von *ASS-Non-Response* unter Komedikation mit Metamizol bei Schmerzpatienten mit hochdosiertem und festem Medikationsschema macht es erforderlich, Therapiekonzepte zu entwickeln, die gleichermaßen eine ausreichende Analgesie und Thrombozytenfunktionshemmung sicherstellen.

Die zeitkinetischen Untersuchungen der eigenen Pilotstudien im Vollblut gesunder Probanden zeigten, dass 5 µM ASS in Abwesenheit von 10 µM MAA die Thromboxansynthese nach 30 - 40 Minuten um 90 % hemmt, wohingegen in Anwesenheit von 10 µM MAA auch nach 90 Minuten keine Hemmung durch ASS nachweisbar war (Abb.18). Die Zeitdauer, die ASS für eine weitgehende Hemmung der Thromboxansynthese benötigte, lag damit nah an seiner HWZ (15 - 20 Minuten). So demonstrierten Dannenberg et al. und Polzin et al., dass bei Einnahme von Metamizol 30 Minuten nach ASS, die durch ASS bewirkte Thrombozytenhemmung nicht durch Metamizol beeinträchtigt wurde, da ASS schon seine Wirkung auf

Thrombozyten entfaltet hatte (26,291). Ob sich dies auch auf die klinische Situation bei Schmerzpatienten mit regelmäßiger Einnahme von Metamizol übertragen lässt, müssten weitere Studien klären.

In den Pilotstudien zur vorliegenden Arbeit konnte unter hohen Konzentrationen von ASS (100 μ M und 300 μ M) in Anwesenheit von MAA eine Hemmung der Thrombozytenfunktion (TXB₂-Synthese und Aggregation) registriert werden (Abb. 10 und 12). Diese war jedoch nicht vollständig. Dies bestätigen zumindest teilweise frühere *in vitro*-Untersuchungen von Hohlfeld et al., wo hohe Konzentrationen (100 bzw. 300 μ M) von ASS den Effekt von Metamizol (in Form des aktiven Metaboliten MAA) an der COX-1 überwinden konnten (25). Ob eine Dosissteigerung von ASS über die übliche Dosierung von 100 mg hinaus die Interaktion mit Metamizol klinisch unterbinden kann, bleibt ebenfalls in klinischen Studien zu prüfen. Die Ergebnisse der vorliegenden Dissertation zeigen, dass die nachträglich Zugabe (*in vitro*) von ASS in Konzentrationen bis 100 μ M ASS nicht ausreichend war, um eine vollständige Aggregationshemmung zu erzielen. Auch eine Untersuchung von Polzin et al. konnte erst bei ASS-Konzentrationen von $\geq 300 \mu$ M (nachträglich *in vitro* zugesetzt) eine vollständige Aggregationshemmung in Gegenwart von Metamizol nachweisen (26). Solch hohe Konzentrationen von ASS im Plasma bedürfen jedoch deutlich höherer oraler ASS-Dosierungen (> 500 mg) oder einer parenteralen Verabreichung von ASS (z.B. 500 mg i.v.) (53). In der ARCTIC Studie konnte bei ASS-*Non-Response* durch Gabe eines i.v. ASS-Bolus wieder eine Aggregationshemmung erzielt werden, was jedoch im klinischen Alltag außer in Hochrisikosituationen, schwer umsetzbar ist (292). Auch wäre mit einer höheren Rate an Nebenwirkungen zu rechnen, da bei höherer Dosierung auch die Synthese gastrointestinal und kardiovaskulär protektiver Prostaglandine gehemmt würde (293,294). Im Ergebnis erscheint es daher unwahrscheinlich, dass eine Erhöhung der oralen Dosierung von ASS geeignet wäre, die Interaktion mit Metamizol zu verhindern.

Für die Verteilung der ASS-Dosis auf zwei niedrige Einzeldosen am Tag, gegenüber einmaliger höherer Dosierung am Tag konnten einzelne Studien zwar einen Vorteil belegen (295–297). Dass hierdurch die Interaktion mit Metamizol verhindert werden kann, ist allerdings wenig wahrscheinlich, da doch gerade eine hohe ASS-Konzentration notwendig zu sein scheint, um die Interaktion mit Metamizol zu verhindern.

Unter einer nur kurz andauernden Komedikation von *low-dose* ASS und Metamizol ist ein Wirkverlust von *low-dose* ASS unwahrscheinlich. Börgermann et al. konnten bei gesunden Probanden, welche 5 Tage *low-dose* ASS eingenommen haben, nach Komedikation mit Metamizol (3 x 1 g/d) für 2 Tage keine Interaktion detektieren. Dies überrascht nicht, denn die Lebenszeit eines Thrombozyten beträgt im Mittel 10 Tage (298), so dass die irreversible Hemmung der Thromboxansynthese durch ASS über mehr als 2 Tage fortbesteht.

Da die Interaktion von Metamizol mit der Thrombozytenhemmung durch ASS am ehesten durch Konkurrenz an der thrombozytären COX-1 zu erklären ist (s. Kapitel 4.2 und Abb. 24), könnte eine Umstellung auf Thrombozytenaggregationshemmer, die einen anderen Aktivierungsweg inhibieren, ebenfalls eine Option sein, die Interaktion zu „umgehen“ (s. Abb. 1).

P2Y₁₂-Antagonisten wie z.B. Clopidogrel, hemmen thromboxanunabhängig die ADP-abhängige Thrombozytenaktivierung. Clopidogrel ist jedoch erst nach Metabolisierung über das Cytochrom-P-450-System, welches im Rahmen von Arzneimittelinteraktionen eine relevante Rolle spielt, pharmakologisch aktiv (299). Entsprechend besteht eine große Heterogenität in der Wirkung von Clopidogrel (300). Die Studienlage zur Bedeutung von Clopidogrel im Vergleich zu *low-dose* ASS ist zudem uneinheitlich. Zeigte die CAPRIE-Studie für Clopidogrel als Monotherapie bei Hochrisikopatienten ein gegenüber ASS um 8,7% reduziertes Risiko für zerebro- und kardiovaskuläre Ereignisse oder vaskulären Tod (67), stellte sich in aktuelleren Studien und Metaanalysen für einen Wechsel von ASS auf Clopidogrel (75 mg) kein Vorteil bezüglich primärer Endpunkte und Mortalität dar (161,301). Aktuell ist Clopidogrel als Monotherapie nur bei Unverträglichkeit gegenüber ASS (Allergie, ASS-Asthma) und bei pAVK zugelassen und findet vorrangig im Rahmen einer dualen Antiplättchentherapie in Kombination mit *low-dose* ASS Anwendung. Prasugrel und Ticagrelor als neuere P2Y₁₂-Antagonisten sind nur in Kombination mit ASS zugelassen und stellen somit ebenfalls keine Alternative für *low-dose* ASS dar. Eine Kombinationstherapie mit dem Ziel die Schmerztherapie mit Metamizol beizubehalten, wäre aufgrund des erhöhten Blutungsrisikos (40 – 50 %) mit ungünstigem Nutzen-Risiko-Verhältnis ebenfalls keine Option (294,301).

Der Einsatz von GP IIb/IIIa-Inhibitoren (Abciximab, Tirofiban, Eptifibatid), welche an der Endstrecke der Thrombozytenaggregation die Fibrinogenvernetzung verhindern, hat sich in der breiten klinischen Anwendung u.a. aufgrund von allergischen

Reaktionen, erhöhtem Risiko einer Thrombozytopenie und Blutungskomplikationen nicht durchgesetzt (302), sodass sie in der aktuellen Leitlinie für das NSTEMI-ACS nur „während PCI in Hochrisikosituationen oder bei thrombotischen Komplikationen“ in Kombination mit ASS lediglich mit einem niedrigen Evidenzgrad IIB aufgeführt werden (55) (s. Abb. 1 und Tabelle 1). Außerdem stehen sie nur als parenterale Verabreichungsform zur Verfügung.

Präparate, die die Thrombozytenfunktion über Thromboxan selbst inhibieren, sind bisher in keiner Leitlinie aufgeführt und somit auch keine Alternative für *low-dose* ASS. Auch der Thrombinrezeptorantagonist Vorapaxar ist ebenfalls nur als Kombinationstherapie zugelassen und birgt ein hohes Blutungsrisiko (303,304) (s. Abb. 1).

Auch Gerinnungshemmer werden in der Sekundärprophylaxe kardiovaskulärer Ereignisse eingesetzt. So hat Rivaroxaban (2 x 2,5 mg/d), ein direkter Faktor Xa-Inhibitor, als erstes neues orales Antikoagulans eine Zulassung für die Prophylaxe atherothrombotischer Ereignisse bei KHK und pAVK. Diese Studien lieferten keine Evidenz dafür, dass ASS bei „*Non-Response*“ durch Antikoagulanzen ersetzt werden kann. Positive Effekte zeigten sich hier in Kombination mit ASS (305,306).

Nach wie vor stellt somit *low-dose* ASS die Basis der antithrombozytären Therapie dar.

Statt ASS zu ersetzen wäre auch eine Umstellung der Schmerzmedikation auf andere Nicht-Opioid Analgetika zu diskutieren. Nachgewiesenermaßen können NSAID jedoch das kardiovaskuläre Risiko erhöhen und die kardiovaskuläre Prognose verschlechtern (286,307,308). Als eine potentielle Ursache für das erhöhte kardiovaskuläre Risiko von NSAID wird eine Hemmung der Prostaglandin-Synthese in der Gefäßwand (z.B. vaskuläres Endothel) gesehen. Hier wird insbesondere das Isoenzym COX-2 exprimiert, welches PGI₂ synthetisiert, ein biologischer „Gegenspieler“ von TXA₂ mit antithrombotischen, vasodilatierenden und in der Niere natriuretischen Eigenschaften. Daraus resultiert eine gestörte Homöostase zwischen pro- und antithrombotischen Faktoren. Es kann zudem durch Hemmung der Natriumausscheidung zu Blutdruckerhöhungen und Verschlechterung einer Herzinsuffizienz kommen (309). Aufgrund dieser Kenntnisse haben Fachgesellschaften, wie die „*American Heart Association*“ und auch die „Deutsche Gesellschaft für Kardiologie“ zur besonderen Vorsicht beim Einsatz von NSAID und COX-2-Hemmern bei Patienten mit KHK und auch Herzinsuffizienz aufgerufen

(310,311). Da diese Risiken für Metamizol nicht bestehen oder zumindest bisher nicht dokumentiert wurden, stellt dieses insbesondere für die oben genannte Patientengruppe, aber auch für Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion oder gastrointestinalem Risiko ein beliebtes Analgetikum mit seit Jahren kontinuierlich ansteigenden Verordnungszahlen dar (276,312).

Paracetamol als Nicht-NSAID inhibiert nur moderat COX-1 und COX-2 und wirkt wahrscheinlich über die zentrale Aktivierung absteigender serotonerger Bahnen und des endogenen Cannabionoidsystems (313,314). Paracetamol bildet keine Wasserstoffbrücken im Substratkanal der COX-1 und interagiert demnach auch nicht mit *low-dose* ASS (24,315). Es besitzt jedoch in oraler Applikation eine niedrigere analgetische Potenz als Metamizol. Es hat entsprechend z.B. in der Palliativmedizin nur noch wenig Bedeutung (316,317). Zudem scheint auch die Therapie mit Paracetamol nicht ohne kardiovaskuläres Risiko zu sein, da in Studien unter regelmäßiger Einnahme von Paracetamol gehäuft kardiovaskuläre Ereignisse beschrieben wurden (318,319). Auch die enge therapeutische Breite hinsichtlich der Lebertoxizität darf nicht außer Acht gelassen werden.

Würde die in dieser Dissertation und anderen Arbeiten beschriebene Interaktion von Metamizol mit ASS dazu führen, dass dieses Analgetikum bei Patienten mit vaskulärem Risikoprofil vermieden wird, dann könnte die Schmerztherapie mit Nicht-Opioid-Analgetika in Zukunft zu einer erheblichen Herausforderung werden. Mangels schmerztherapeutischer Alternativen könnte ein früherer Einsatz von Opioiden (WHO-Stufe 2), resultieren. Opiate haben jedoch ein höheres Nebenwirkungsprofil und können u.a. aufgrund ihres zentralen Wirkmechanismus potentiell sowohl zu Müdigkeit, Schwindel, Verwirrung, als auch Gewöhnung und Abhängigkeit, Übelkeit, Obstipation und bei Überdosierung Atemdepression führen (320). Zudem besteht unter Opiattherapie, besonders bei Therapieeinleitung oder Dosisänderung eine eingeschränkte Verkehrs- bzw. Fahrtüchtigkeit (321).

Zusammenfassend ist ein optimiertes Therapieregime zur Behandlung kardiovaskulärer Erkrankungen, gekoppelt mit einer adäquaten Schmerzreduktion, zwar klinisch wichtig, infolge der beschriebenen zahlreichen und komplexen Risiken und Interaktionen, aber schwer zu etablieren. Aufgrund der beschriebenen Interaktion zwischen ASS und Metamizol und der Gefahr hierdurch eine *ASS-Non-Response* zu entwickeln, erscheint eine Überwachung der Plättchenfunktion gerade bei Patienten mit hohem kardiovaskulärem Risiko sinnvoll. Ein routinemäßiges Screening wird

aktuell aber in den Leitlinien nicht empfohlen, insbesondere da kein „Goldstandard“ für die Labormethodik vorliegt, die Sensitivität unter den Testverfahren sehr stark variiert und keine Studien vorliegen, die einen klinischen Nutzen gezeigt haben (162,292,322). Hier ist weitere Forschung indiziert. Eine zeitversetzte Einnahme, möglichst orale Verabreichung von Metamizol, sowie die Applikation in der niedrigsten Dosis können das Risiko der Interaktion reduzieren (291).

Ärzten und Pharmazeuten kommt in der Vermeidung der Interaktion eine besondere Bedeutung zu, da es sich bei Metamizol um ein verschreibungspflichtiges Medikament handelt. So sollten Ärzte und Apotheker die Medikation ihrer Patienten auf mögliche Interaktionen stets prüfen und den Patienten auf Einnahmemodalitäten aufmerksam machen, diese im Medikationsplan vermerken um ihn für die Arzneimittelinteraktion zu sensibilisieren. Auch Computerdatenbanken und „Wechselwirkungs-Checks“, wie sie in vielen Kliniken bereits Standard sind, sollten diese Arzneimittelinteraktion berücksichtigen. Auch für Patienten sind solche Programme z.B. auf der Seite der Apothekenumschau zugänglich und die Arzneimittelinteraktion von ASS und Metamizol dort bereits aufgeführt (323). Patienten sollten auf diese Möglichkeit hingewiesen werden.

5 Literaturverzeichnis

1. Mensah GA, Wei GS, Sorlie PD, Fine LJ, Rosenberg Y, Kaufmann PG, u. a. Decline in Cardiovascular Mortality: Possible Causes and Implications. *Circ Res.* 20. Januar 2017;120(2):366–80.
2. Ford ES, Ajani UA, Croft JB, Critchley JA, Labarthe DR, Kottke TE, u. a. Explaining the decrease in U.S. deaths from coronary disease, 1980-2000. *N Engl J Med.* 7. Juni 2007;356(23):2388–98.
3. Puymirat É. [Epidemiology of coronary artery disease]. *Rev Prat.* März 2015;65(3):317–20.
4. Statistisches Bundesamt (DESTATIS). Todesursachen in Deutschland - Zahl der Todesfälle im Jahr 2017 um 2,3 % gestiegen [Internet]. Todesursachen in Deutschland. 2019 [zitiert 27. August 2019]. Verfügbar unter: <https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Gesundheit/Todesursachen/todesfaelle.html>
5. Roth GA, Johnson C, Abajobir A, Abd-Allah F, Abera SF, Abyu G, u. a. Global, Regional, and National Burden of Cardiovascular Diseases for 10 Causes, 1990 to 2015. *J Am Coll Cardiol.* Juli 2017;70(1):1–25.
6. Grundy SM. Age as a risk factor: you are as old as your arteries. *Am J Cardiol.* 15. Mai 1999;83(10):1455–7, A7.
7. Antithrombotic Trialists' Collaboration. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ.* 12. Januar 2002;324(7329):71–86.
8. Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften. NVL Chronische KHK: Medikamentöse Therapie (aktualisiert 2019) — ÄZQ [Internet]. 2019 [zitiert 27. August 2019]. Verfügbar unter: <https://www.leitlinien.de/nvl/html/nvl-chronische-khk/5-auflage/kapitel-7>
9. Baigent C, Blackwell L, Collins R, Emberson J, Godwin J, Peto R, u. a. Aspirin in the primary and secondary prevention of vascular disease: collaborative meta-analysis of individual participant data from randomised trials. *Lancet.* 30. Mai 2009;373(9678):1849–60.
10. Hankey GJ, Eikelboom JW. Aspirin resistance. *Lancet.* 18. Februar 2006;367(9510):606–17.
11. Du G, Lin Q, Wang J. A brief review on the mechanisms of aspirin resistance. *Int J Cardiol.* 1. Oktober 2016;220(Supplement C):21–6.
12. Floyd CN, Ferro A. Mechanisms of aspirin resistance. *Pharmacol Ther.* Januar 2014;141(1):69–78.
13. Linden MD, Tran H, Woods R, Tonkin A. High platelet reactivity and antiplatelet therapy resistance. *Semin Thromb Hemost.* März 2012;38(2):200–12.
14. Tantry US, Mahla E, Gurbel PA. Aspirin resistance. *Prog Cardiovasc Dis.* Oktober 2009;52(2):141–52.
15. Rao GH, Johnson GG, Reddy KR, White JG. Ibuprofen protects platelet cyclooxygenase from irreversible inhibition by aspirin. *Arterioscler Dallas Tex.* August 1983;3(4):383–8.
16. Catella-Lawson F, Reilly MP, Kapoor SC, Cucchiara AJ, DeMarco S, Tournier B, u. a. Cyclooxygenase inhibitors and the antiplatelet effects of aspirin. *N Engl J Med.* 20. Dezember 2001;345(25):1809–17.
17. Schuijt MP, Huntjens-Fleuren HWHA, de Metz M, Vollaard EJ. The interaction of ibuprofen and diclofenac with aspirin in healthy volunteers. *Br J Pharmacol.* Juli 2009;157(6):931–4.

18. Awa K, Satoh H, Hori S, Sawada Y. Prediction of time-dependent interaction of aspirin with ibuprofen using a pharmacokinetic/pharmacodynamic model. *J Clin Pharm Ther.* August 2012;37(4):469–74.
19. Gladding PA, Webster MWI, Farrell HB, Zeng ISL, Park R, Ruijne N. The antiplatelet effect of six non-steroidal anti-inflammatory drugs and their pharmacodynamic interaction with aspirin in healthy volunteers. *Am J Cardiol.* 1. April 2008;101(7):1060–3.
20. Meek IL, Vonkeman HE, Kasemier J, Movig KLL, van de Laar MAFJ. Interference of NSAIDs with the thrombocyte inhibitory effect of aspirin: a placebo-controlled, ex vivo, serial placebo-controlled serial crossover study. *Eur J Clin Pharmacol.* März 2013;69(3):365–71.
21. Livio M, Del Maschio A, Cerletti C, de Gaetano G. Indomethacin prevents the long-lasting inhibitory effect of aspirin on human platelet cyclo-oxygenase activity. *Prostaglandins.* Juni 1982;23(6):787–96.
22. Capone ML, Sciulli MG, Tacconelli S, Grana M, Ricciotti E, Renda G, u. a. Pharmacodynamic interaction of naproxen with low-dose aspirin in healthy subjects. *J Am Coll Cardiol.* 19. April 2005;45(8):1295–301.
23. Anzellotti P, Capone ML, Jeyam A, Tacconelli S, Bruno A, Tontodonati P, u. a. Low-dose naproxen interferes with the antiplatelet effects of aspirin in healthy subjects: recommendations to minimize the functional consequences. *Arthritis Rheum.* März 2011;63(3):850–9.
24. Saxena A, Balaramnavar VM, Hohlfeld T, Saxena AK. Drug/drug interaction of common NSAIDs with antiplatelet effect of aspirin in human platelets. *Eur J Pharmacol.* 5. Dezember 2013;721(1–3):215–24.
25. Hohlfeld T, Zimmermann N, Weber A-A, Jessen G, Weber H, Schrör K, u. a. Pyrazolinone analgesics prevent the antiplatelet effect of aspirin and preserve human platelet thromboxane synthesis. *J Thromb Haemost JTH.* Januar 2008;6(1):166–73.
26. Polzin A, Richter S, Schrör K, Rassaf T, Merx MW, Kelm M, u. a. Prevention of dipyron (metamizole) induced inhibition of aspirin antiplatelet effects. *Thromb Haemost.* Juli 2015;114(1):87–95.
27. Dannenberg L, Erschoff V, Bönner F, Gliem M, Jander S, Levkau B, u. a. Dipyron comedication in aspirin treated stroke patients impairs outcome. *Vascul Pharmacol.* Dezember 2016;87:66–9.
28. Polzin A, Zeus T, Schrör K, Kelm M, Hohlfeld T. Dipyron (metamizole) can nullify the antiplatelet effect of aspirin in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 29. Oktober 2013;62(18):1725–6.
29. Achilles A, Mohring A, Dannenberg L, Piayda K, Levkau B, Hohlfeld T, u. a. Analgesic medication with dipyron in patients with coronary artery disease: Relation to MACCE. *Int J Cardiol.* 1. Juni 2017;236:76–81.
30. Dannenberg L, Petzold T, Achilles A, Naguib D, Zako S, Helten C, u. a. Dose reduction, oral application, and order of intake to preserve aspirin antiplatelet effects in dipyron co-medicated chronic artery disease patients. *Eur J Clin Pharmacol.* 24. September 2018;
31. Hoffman M, Monroe DM. A cell-based model of hemostasis. *Thromb Haemost.* Juni 2001;85(6):958–65.
32. Michelson AD. Antiplatelet therapies for the treatment of cardiovascular disease. *Nat Rev Drug Discov.* 1. Februar 2010;9:154.
33. Vane JR, Bakhle YS, Botting RM. Cyclooxygenases 1 and 2. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1998;38:97–120.

34. Patrignani P, Sciulli MG, Manarini S, Santini G, Cerletti C, Evangelista V. COX-2 is not involved in thromboxane biosynthesis by activated human platelets. *J Physiol Pharmacol Off J Pol Physiol Soc.* Dezember 1999;50(4):661–7.
35. Gómez-Hernández A, Martín-Ventura JL, Sánchez-Galán E, Vidal C, Ortego M, Blanco-Colio LM, u. a. Overexpression of COX-2, Prostaglandin E synthase-1 and prostaglandin E receptors in blood mononuclear cells and plaque of patients with carotid atherosclerosis: regulation by nuclear factor-kappaB. *Atherosclerosis.* Juli 2006;187(1):139–49.
36. Moncada S, Needleman P, Bunting S, Vane JR. Prostaglandin endoperoxide and thromboxane generating systems and their selective inhibition. *Prostaglandins.* September 1976;12(3):323–35.
37. Needleman P, Minkes M, Raz A. Thromboxanes: selective biosynthesis and distinct biological properties. *Science.* 9. Juli 1976;193(4248):163–5.
38. Nakahata N. Thromboxane A₂: Physiology/pathophysiology, cellular signal transduction and pharmacology. *Pharmacol Ther.* April 2008;118(1):18–35.
39. Schrör K, Huber K, Hohlfeld T. Functional testing methods for the antiplatelet effects of aspirin. *Biomark Med.* Februar 2011;5(1):31–42.
40. Petri MH, Tellier C, Michiels C, Ellertsen I, Dogné J-M, Bäck M. Effects of the dual TP receptor antagonist and thromboxane synthase inhibitor EV-077 on human endothelial and vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 15. November 2013;441(2):393–8.
41. Desborough MJR, Keeling DM. The aspirin story - from willow to wonder drug. *Br J Haematol.* 2017;177(5):674–83.
42. Singer R. ACETYLSALICYLIC ACID, A PROBABLE CAUSE FOR SECONDARY POST-TONSILLECTOMY HEMORRHAGE: A PRELIMINARY REPORT. *Arch Otolaryngol.* 1. Juli 1945;42(1):19–20.
43. Smith JB, Willis AL. Aspirin selectively inhibits prostaglandin production in human platelets. *Nature New Biol.* 23. Juni 1971;231(25):235–7.
44. Arzneimittelkommission Der Deutschen Ärzteschaft (AkdÄ), Deutsche Gesellschaft Für Allgemeinmedizin Und Familienmedizin (DEGAM), Deutsche Gesellschaft Ernährungsmedizin (DGEM), Deutsche Gesellschaft Für Innere Medizin (DGIM), Deutsche Gesellschaft Für Kardiologie- Herz- Und Kreislaufforschung (DGK), Deutsche Gesellschaft Für Nuklearmedizin (DGN), u. a. Nationale VersorgungsLeitlinie Chronische KHK - Langfassung, 5. Auflage [Internet]. Bundesärztekammer (BÄK); Kassenärztliche Bundesvereinigung (KBV); Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF); 2019 [zitiert 27. August 2019]. Verfügbar unter: <https://www.leitlinien.de/mdb/downloads/nvl/khk/khk-5aufl-vers1-lang.pdf>
45. Ouellet M, Riendeau D, Percival MD. A high level of cyclooxygenase-2 inhibitor selectivity is associated with a reduced interference of platelet cyclooxygenase-1 inactivation by aspirin. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 4. Dezember 2001;98(25):14583–8.
46. Patrono C, Ciabattoni G, Patrignani P, Pugliese F, Filabozzi P, Catella F, u. a. Clinical pharmacology of platelet cyclooxygenase inhibition. *Circulation.* Dezember 1985;72(6):1177–84.
47. Tada M, Hoshida S, Kuzuya T, Inoue M, Minamino T, Abe H. Augmented thromboxane A₂ generation and efficacy of its blockade in acute myocardial infarction. *Int J Cardiol.* Juli 1985;8(3):301–12.
48. Reilly IA, FitzGerald GA. Inhibition of thromboxane formation in vivo and ex vivo: implications for therapy with platelet inhibitory drugs. *Blood.* Januar 1987;69(1):180–6.

49. Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften. S3-Leitlinie: Sekundärprophylaxe ischämischer Schlaganfall und transitorische ischämische Attacke. [Internet]. 2015 [zitiert 4. November 2018]. Verfügbar unter: <https://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/030-133.html>
50. Beubler E. Saure antiphlogistische, antipyretische Analgetika (NSAR). In: Kompendium der medikamentösen Schmerztherapie [Internet]. 6. Aufl. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2016 [zitiert 4. November 2018]. S. 30–1. Verfügbar unter: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-662-48827-0>
51. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ*. 12. Januar 2002;324(7329):71–86.
52. Ibanez B, James S, Agewall S, Antunes MJ, Bucciarelli-Ducci C, Bueno H, u. a. 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 7. Januar 2018;39(2):119–77.
53. Nagelschmitz J, Blunck M, Kraetzschmar J, Ludwig M, Wensing G, Hohlfeld T. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of acetylsalicylic acid after intravenous and oral administration to healthy volunteers. *Clin Pharmacol Adv Appl*. 19. März 2014;6:51–9.
54. Zeymer U, Hohlfeld T, Vom Dahl J, Erbel R, Münzel T, Zahn R, u. a. Prospective, randomised trial of the time dependent antiplatelet effects of 500 mg and 250 mg acetylsalicylic acid i. v. and 300 mg p. o. in ACS (ACUTE). *Thromb Haemost*. 28. Februar 2017;117(3):625–35.
55. Roffi M, Patrono C, Collet J-P, Mueller C, Valgimigli M, Andreotti F, u. a. 2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: Task Force for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent ST-Segment Elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 14. Januar 2016;37(3):267–315.
56. Randomised trial of intravenous streptokinase, oral aspirin, both, or neither among 17,187 cases of suspected acute myocardial infarction: ISIS-2. ISIS-2 (Second International Study of Infarct Survival) Collaborative Group. *Lancet Lond Engl*. 13. August 1988;2(8607):349–60.
57. Zinkstok SM, Roos YB, ARTIS investigators. Early administration of aspirin in patients treated with alteplase for acute ischaemic stroke: a randomised controlled trial. *Lancet Lond Engl*. 25. August 2012;380(9843):731–7.
58. Gaziano JM, Brotons C, Coppolecchia R, Cricelli C, Darius H, Gorelick PB, u. a. Use of aspirin to reduce risk of initial vascular events in patients at moderate risk of cardiovascular disease (ARRIVE): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Lond Engl*. 22 2018;392(10152):1036–46.
59. Sutcliffe P, Connock M, Gurung T, Freeman K, Johnson S, Ngianga-Bakwin K, u. a. Aspirin in primary prevention of cardiovascular disease and cancer: a systematic review of the balance of evidence from reviews of randomized trials. *PloS One*. 2013;8(12):e81970.
60. ASCEND Study Collaborative Group, Bowman L, Mafham M, Wallendszus K, Stevens W, Buck G, u. a. Effects of Aspirin for Primary Prevention in Persons with Diabetes Mellitus. *N Engl J Med*. 18 2018;379(16):1529–39.
61. Derosa G, Mugellini A, Pesce RM, D'Angelo A, Maffioli P. A study about the relevance of adding acetylsalicylic acid in primary prevention in subjects with

- type 2 diabetes mellitus: effects on some new emerging biomarkers of cardiovascular risk. *Cardiovasc Diabetol.* 30. Juli 2015;14:95.
62. Antithrombotic Trialists' (ATT) Collaboration, Baigent C, Blackwell L, Collins R, Emberson J, Godwin J, u. a. Aspirin in the primary and secondary prevention of vascular disease: collaborative meta-analysis of individual participant data from randomised trials. *Lancet Lond Engl.* 30. Mai 2009;373(9678):1849–60.
 63. Wolff T, Miller T, Ko S. Aspirin for the Primary Prevention of Cardiovascular Events: An Update of the Evidence for the U.S. Preventive Services Task Force [Internet]. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (US); 2009 [zitiert 5. März 2018]. (U.S. Preventive Services Task Force Evidence Syntheses, formerly Systematic Evidence Reviews). Verfügbar unter: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK35203/>
 64. Aalbers J. Aspirin in primary prevention: USPSTF recommendations. *Cardiovasc J Afr.* Juni 2010;21(3):176.
 65. Rothwell PM, Algra A, Chen Z, Diener H-C, Norrving B, Mehta Z. Effects of aspirin on risk and severity of early recurrent stroke after transient ischaemic attack and ischaemic stroke: time-course analysis of randomised trials. *Lancet Lond Engl.* 23. Juli 2016;388(10042):365–75.
 66. Valentijn TM, Stolker RJ. Lessons from the REACH Registry in Europe. *Curr Vasc Pharmacol.* November 2012;10(6):725–7.
 67. A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). CAPRIE Steering Committee. *Lancet.* 16. November 1996;348(9038):1329–39.
 68. Feldman DN, Moussa ID. Efficacy of aspirin for secondary prevention in patients with peripheral artery disease. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* Oktober 2009;7(10):1203–7.
 69. S3-Leitlinie PAVK - Diagnostik, Therapie und Nachsorge der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit. *Vasa.* September 2016;45(Supplement 95):1–96.
 70. Guyatt GH, Akl EA, Crowther M, Gutterman DD, Schünemann HJ, American College of Chest Physicians Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis Panel. Executive summary: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest.* Februar 2012;141(2 Suppl):7S-47S.
 71. Alonso-Coello P, Bellmunt S, McGorrian C, Anand SS, Guzman R, Criqui MH, u. a. Antithrombotic therapy in peripheral artery disease: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest.* Februar 2012;141(2 Suppl):e669S-e690S.
 72. Aboyans V, Ricco J-B, Bartelink M-LEL, Björck M, Brodmann M, Cohnert T, u. a. 2017 ESC Guidelines on the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases, in collaboration with the European Society for Vascular Surgery (ESVS). *Eur Heart J.* 1. März 2018;39(9):763–816.
 73. Landolfi R, Marchioli R, Kutti J, Gisslinger H, Tognoni G, Patrono C, u. a. Efficacy and safety of low-dose aspirin in polycythemia vera. *N Engl J Med.* 8. Januar 2004;350(2):114–24.
 74. Vainchenker W, Dusa A, Constantinescu SN. JAKs in pathology: Role of Janus kinases in hematopoietic malignancies and immunodeficiencies. *Semin Cell Dev Biol.* August 2008;19(4):385–93.
 75. Eva Lengfelder, Gabriela M. Baerlocher, Konstanze Döhner, Heinz Gisslinger, Martin Griebhammer, Steffen Koschmieder, Petro E. Petrides. Leitlinien Portal

- der Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie - Polycythaemia Vera (PV) [Internet]. DGHO Onkopedia - Leitlinien Portal der Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie. [zitiert 27. August 2019]. Verfügbar unter: <https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/polycythaemia-vera-pv>
76. Rowland M, Riegelman S, Harris PA, Sholkoff SD. Absorption kinetics of aspirin in man following oral administration of an aqueous solution. *J Pharm Sci.* März 1972;61(3):379–85.
 77. Nordt SP, Clark RF, Castillo EM, Guss DA. Comparison of three aspirin formulations in human volunteers. *West J Emerg Med.* November 2011;12(4):381–5.
 78. Schoen RT, Vender RJ. Mechanisms of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced gastric damage. *Am J Med.* April 1989;86(4):449–58.
 79. Rowland M, Riegelman S, Harris PA, Sholkoff SD, Eyring EJ. Kinetics of acetylsalicylic acid disposition in man. *Nature.* 22. Juli 1967;215(5099):413–4.
 80. Spenny JG. Acetylsalicylic acid hydrolase of gastric mucosa. *Am J Physiol.* Juni 1978;234(6):E606-610.
 81. Williams FM, Mutch EM, Nicholson E, Wynne H, Wright P, Lambert D, u. a. Human liver and plasma aspirin esterase. *J Pharm Pharmacol.* Juni 1989;41(6):407–9.
 82. Gelbe Liste Online. Fachinformation ASS 100 mg HEXAL® Tabletten | Gelbe Liste [Internet]. Gelbe Liste Online. 2017 [zitiert 4. November 2018]. Verfügbar unter: https://www.gelbe-liste.de/produkte/ASS-100-mg-HEXAL-Tabletten_119862/fachinformation
 83. Hohlfeld Th. Pharmakokinetik von Acetylsalicylsäure. In: Schrör K, Breddin HK, Herausgeber. *Acetylsalicylsäure im Kardiovaskulären System* [Internet]. Basel: Birkhäuser Basel; 1996 [zitiert 4. November 2018]. S. 12–35. Verfügbar unter: http://link.springer.com/10.1007/978-3-0348-7574-5_2
 84. Schrör K, Breddin HK, Herausgeber. *Acetylsalicylsäure im Kardiovaskulären System* [Internet]. Basel: Birkhäuser Basel; 1996 [zitiert 26. Oktober 2019]. Verfügbar unter: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-0348-7574-5>
 85. Fendrich Z. [Metamizol--a new effective analgesic with a long history. Overview of its pharmacology and clinical use]. *Cas Lek Cesk.* 19. Juli 2000;139(14):440–4.
 86. Böger RH, Schmidt G. Analgetika. In: Schwabe U, Paffrath D, Ludwig W-D, Klauber J, Herausgeber. *Arzneiverordnungs-Report 2018* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2018 [zitiert 2. November 2018]. S. 289–301. Verfügbar unter: http://link.springer.com/10.1007/978-3-662-57386-0_9
 87. Jasiocka A, Maślanka T, Jaroszewski JJ. Pharmacological characteristics of metamizole. *Pol J Vet Sci.* 2014;17(1):207–14.
 88. Comparative study of the efficacy of dipyron, diclofenac sodium and pethidine in acute renal colic. Collaborative Group of the Spanish Society of Clinical Pharmacology. *Eur J Clin Pharmacol.* 1991;40(6):543–6.
 89. Edwards JE, Meseguer F, Faura C, Moore RA, McQuay HJ. Single dose dipyron for acute renal colic pain. *Cochrane Database Syst Rev Online.* 2002;(4):CD003867.
 90. Nikolova I, Tencheva J, Voinikov J, Petkova V, Benbasat N, Danchev N. Metamizole: A Review Profile of a Well-Known “Forgotten” Drug. Part I: Pharmaceutical and Nonclinical Profile. *Biotechnol Biotechnol Equip.* Januar 2012;26(6):3329–37.

91. Steffen P, Seeling W, Reiser A, Rockemann M, Georgieff M. [Differential indications for non-opioids for postoperative analgesia III. Analgesic effect of perioperative administration of metamizole plus diclofenac after spinal anesthesia]. *Anesthesiologie Intensivmed Notfallmedizin Schmerzther AINS*. August 1997;32(8):496–501.
92. Steffen P, Schuhmacher I, Weichel T, Georgieff M, Seeling W. Untersuchungen zum differenzierten Einsatz von Nichtopioiden zur postoperativen Analgesie I - Quantifizierung des analgetischen Effektes von Metamizol mittels der patientenkontrollierten Analgesie. *AINS - Anästhesiol · Intensivmed · Notfallmedizin · Schmerzther*. April 1996;31(03):143–7.
93. Tempel G, von Hundelshausen B, Reeker W. The opiate-sparing effect of dipyrrone in post-operative pain therapy with morphine using a patient-controlled analgesic system. *Intensive Care Med*. Oktober 1996;22(10):1043–7.
94. Gaertner J, Stamer UM, Remi C, Voltz R, Bausewein C, Sabatowski R, u. a. Metamizole/dipyrrone for the relief of cancer pain: A systematic review and evidence-based recommendations for clinical practice. *Palliat Med*. Januar 2017;31(1):26–34.
95. Duarte Souza JF, Lajolo PP, Pinczowski H, del Giglio A. Adjunct dipyrrone in association with oral morphine for cancer-related pain: the sooner the better. *Support Care Cancer Off J Multinatl Assoc Support Care Cancer*. November 2007;15(11):1319–23.
96. Martínez-Martín P, Raffaelli E Jr, Titus F, Despuig J, Fragoso YD, Díez-Tejedor E, u. a. Efficacy and safety of metamizol vs. acetylsalicylic acid in patients with moderate episodic tension-type headache: a randomized, double-blind, placebo- and active-controlled, multicentre study. *Cephalalgia Int J Headache*. Juni 2001;21(5):604–10.
97. Ramacciotti AS, Soares BGO, Atallah AN. Dipyrrone for acute primary headaches. *Cochrane Database Syst Rev*. 18. April 2007;(2):CD004842.
98. de Souza Carvalho D, Barea LM, Kowacs PA, Fragoso YD. Efficacy and tolerability of combined dipyrrone, isometheptene and caffeine in the treatment of mild-to-moderate primary headache episodes. *Expert Rev Neurother*. Februar 2012;12(2):159–67.
99. Weinman D, Nicastro O, Akala O, Friedman BW. Parenteral treatment of episodic tension-type headache: a systematic review. *Headache*. Februar 2014;54(2):260–8.
100. Kaya B, Elçin Işılğan S, Serel S, Ergün H. Metamizole: an effective solution for vasospasm. *J Plast Surg Hand Surg*. Juni 2016;50(3):151–5.
101. Reis GML, Doretto MC, Duarte IDG, Tatsuo M a. KF. Do endogenous opioids and nitric oxide participate in the anticonvulsant action of dipyrrone? *Braz J Med Biol Res Rev Bras Pesqui Medicas E Biol*. September 2003;36(9):1263–8.
102. Pompeia C, Boaventura MF, Curi R. Antiapoptotic effect of dipyrrone on HL-60, Jurkat and Raji cell lines submitted to UV irradiation, arachidonic acid and cycloheximide treatments. *Int Immunopharmacol*. November 2001;1(12):2173–82.
103. Zhang Y, Wang X, Baranov SV, Zhu S, Huang Z, Fellows-Mayle W, u. a. Dipyrrone inhibits neuronal cell death and diminishes hypoxic/ischemic brain injury. *Neurosurgery*. Oktober 2011;69(4):942–56.
104. Gulmez SE, Celik G, Misirligil Z, Tulunay FC. Dipyrrone improves small airway function in asthmatic patients with moderate obstruction. *J Investig Allergol Clin Immunol Off Organ Int Assoc Asthmology INTERASMA Soc Latinoam Alerg E Inmunol*. 2007;17(4):242–8.

105. Kramer MS, Lane DA, Hutchinson TA. The International Agranulocytosis and Aplastic Anemia Study (IAAAS). *J Clin Epidemiol.* 1988;41(6):613–6.
106. Garcia S, Canoniero M, Lopes G, Soriano AO. Metamizole use among Hispanics in Miami: report of a survey conducted in a primary care setting. *South Med J.* September 2006;99(9):924–6.
107. Salama A, Schütz B, Kiefel V, Breithaupt H, Mueller-Eckhardt C. Immune-mediated agranulocytosis related to drugs and their metabolites: mode of sensitization and heterogeneity of antibodies. *Br J Haematol.* Juni 1989;72(2):127–32.
108. BfArM - Weitere Arzneimittelrisiken - Metamizol (Novalgin, Berlosin, Novaminsulfon, etc.): BfArM weist auf richtige Indikationsstellung und Beachtung von Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweisen hin [Internet]. [zitiert 9. März 2018]. Verfügbar unter: <https://www.bfarm.de/SharedDocs/Risikoinformationen/Pharmakovigilanz/DE/RI/2009/RI-metamizol.html>
109. Gyenge-Szabó Z, Szoboszlai N, Frigyes D, Záray G, Mihucz VG. Monitoring of four dipyrone metabolites in communal wastewater by solid phase extraction liquid chromatography electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal.* März 2014;90:58–63.
110. Pogatzki-Zahn E, Chandrasena C, Schug SA. Nonopioid analgesics for postoperative pain management. *Curr Opin Anaesthesiol.* Oktober 2014;27(5):513–9.
111. Valenzuela F, García-Saisó S, Lemini C, Ramírez-Solares R, Vidrio H, Mendoza-Fernández V. Metamizol acts as an ATP sensitive potassium channel opener to inhibit the contracting response induced by angiotensin II but not to norepinephrine in rat thoracic aorta smooth muscle. *Vascul Pharmacol.* August 2005;43(2):120–7.
112. Stammschulte T, Ludwig W-D, Mühlbauer B, Bronder E, Gundert-Remy U. Metamizole (dipyrone)-associated agranulocytosis. An analysis of German spontaneous reports 1990-2012. *Eur J Clin Pharmacol.* September 2015;71(9):1129–38.
113. Saray A, Büyükkocak U, Cinel I, Tellioglu AT, Oral U. Diclofenac and metamizol in postoperative analgesia in plastic surgery. *Acta Chir Plast.* 2001;43(3):71–6.
114. Rohdewald P, Drehsen G, Milsmann E, Derendorf H. Relationship between saliva levels of metamizol metabolites, bioavailability and analgesic efficacy. *Arzneimittelforschung.* 1983;33(7):985–8.
115. Cohen O, Zylber-Katz E, Caraco Y, Granit L, Levy M. Cerebrospinal fluid and plasma concentrations of dipyrone metabolites after a single oral dose of dipyrone. *Eur J Clin Pharmacol.* September 1998;54(7):549–53.
116. Hernández N, Vanegas H. Antinociception induced by PAG-microinjected dipyrone (metamizol) in rats: involvement of spinal endogenous opioids. *Brain Res.* 30. März 2001;896(1–2):175–8.
117. Rogosch T, Sinning C, Podlewski A, Watzler B, Schlosburg J, Lichtman AH, u. a. Novel bioactive metabolites of dipyrone (metamizol). *Bioorg Med Chem.* 1. Januar 2012;20(1):101–7.
118. Carlsson KH, Helmreich J, Jurna I. Activation of inhibition from the periaqueductal grey matter mediates central analgesic effect of metamizol (dipyrone). *Pain.* Dezember 1986;27(3):373–90.
119. Crunfli F, Vilela FC, Giusti-Paiva A. Cannabinoid CB1 receptors mediate the effects of dipyrone. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 27. November 2014;
120. Siebel JS, Beirith A, Calixto JB. Evidence for the involvement of metabotropic glutamatergic, neurokinin 1 receptor pathways and protein kinase C in the

- antinociceptive effect of dipyron in mice. *Brain Res.* 2. April 2004;1003(1–2):61–7.
121. Aguirre-Bañuelos P, Granados-Soto V. Evidence for a peripheral mechanism of action for the potentiation of the antinociceptive effect of morphine by dipyron. *J Pharmacol Toxicol Methods.* Oktober 1999;42(2):79–85.
 122. Alves D, Duarte I. Involvement of ATP-sensitive K(+) channels in the peripheral antinociceptive effect induced by dipyron. *Eur J Pharmacol.* 24. Mai 2002;444(1–2):47–52.
 123. Ortiz MI, Castañeda-Hernández G, Granados-Soto V. Possible involvement of potassium channels in peripheral antinociception induced by metamizol: lack of participation of ATP-sensitive K+ channels. *Pharmacol Biochem Behav.* Januar 2003;74(2):465–70.
 124. Nassini R, Fusi C, Materazzi S, Coppi E, Tuccinardi T, Marone IM, u. a. The TRPA1 channel mediates the analgesic action of dipyron and pyrazolone derivatives. *Br J Pharmacol.* Juli 2015;172(13):3397–411.
 125. Hernández-Delgadillo GP, Cruz SL. Endogenous opioids are involved in morphine and dipyron analgesic potentiation in the tail flick test in rats. *Eur J Pharmacol.* 28. September 2006;546(1–3):54–9.
 126. Vasquez E, Vanegas H. The antinociceptive effect of PAG-microinjected dipyron in rats is mediated by endogenous opioids of the rostral ventromedial medulla. *Brain Res.* 31. Januar 2000;854(1–2):249–52.
 127. Vazquez E, Hernandez N, Escobar W, Vanegas H. Antinociception induced by intravenous dipyron (metamizol) upon dorsal horn neurons: involvement of endogenous opioids at the periaqueductal gray matter, the nucleus raphe magnus, and the spinal cord in rats. *Brain Res.* 28. Juni 2005;1048(1–2):211–7.
 128. Carlini EA. The good and the bad effects of (-) trans-delta-9-tetrahydrocannabinol (Delta 9-THC) on humans. *Toxicol Off J Int Soc Toxicology.* 15. September 2004;44(4):461–7.
 129. Geisslinger G, Peskar BA, Pallapies D, Sittl R, Levy M, Brune K. The effects on platelet aggregation and prostanoid biosynthesis of two parenteral analgesics: ketorolac tromethamine and dipyron. *Thromb Haemost.* Oktober 1996;76(4):592–7.
 130. Hinz B, Cheremina O, Bachmakov J, Renner B, Zolk O, Fromm MF, u. a. Dipyron elicits substantial inhibition of peripheral cyclooxygenases in humans: new insights into the pharmacology of an old analgesic. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol.* August 2007;21(10):2343–51.
 131. Pierre SC, Schmidt R, Brenneis C, Michaelis M, Geisslinger G, Scholich K. Inhibition of cyclooxygenases by dipyron. *Br J Pharmacol.* Juni 2007;151(4):494–503.
 132. Gelbe Liste Online. Fachinformation Metamizol Heumann 500 mg Tabletten | Gelbe Liste [Internet]. Gelbe Liste Online. 2015 [zitiert 4. November 2018]. Verfügbar unter: https://www.gelbe-liste.de/produkte/Metamizol-Heumann-500-mg-Tabletten_952553/fachinformation
 133. Levy M, Zylber-Katz E, Rosenkranz B. Clinical pharmacokinetics of dipyron and its metabolites. *Clin Pharmacokinet.* März 1995;28(3):216–34.
 134. Gosch M, Böhmendorfer B, Benvenuti-Falger U, Dovjak P, Iglseider B, Lechleitner M, u. a. [Polypharmacy and pain treatment]. *Wien Med Wochenschr* 1946. Juni 2010;160(11–12):286–92.
 135. Moßhammer D, Haumann H, Mörike K, Joos S. Polypharmacy—an Upward Trend with Unpredictable Effects. *Dtsch Aerzteblatt Online [Internet].* 23. September 2016 [zitiert 9. Dezember 2018]; Verfügbar unter: <https://www.aerzteblatt.de/10.3238/arztebl.2016.0627>

136. Breivik H, Collett B, Ventafridda V, Cohen R, Gallacher D. Survey of chronic pain in Europe: prevalence, impact on daily life, and treatment. *Eur J Pain Lond Engl*. Mai 2006;10(4):287–333.
137. Schneider KL, Kastenmüller K, Weckbecker K, Bleckwenn M, Böhme M, Stingl JC. Potential Drug-Drug Interactions in a Cohort of Elderly, Polymedicated Primary Care Patients on Antithrombotic Treatment. *Drugs Aging*. 2018;35(6):559–68.
138. Gislason GH, Jacobsen S, Rasmussen JN, Rasmussen S, Buch P, Friberg J, u. a. Risk of death or reinfarction associated with the use of selective cyclooxygenase-2 inhibitors and nonselective nonsteroidal antiinflammatory drugs after acute myocardial infarction. *Circulation*. 27. Juni 2006;113(25):2906–13.
139. Zorowitz RD, Smout RJ, Gassaway JA, Horn SD. Usage of pain medications during stroke rehabilitation: the Post-Stroke Rehabilitation Outcomes Project (PSROP). *Top Stroke Rehabil*. 2005;12(4):37–49.
140. Polzin A, Hohlfeld T, Kelm M, Zeus T. Impairment of aspirin antiplatelet effects by non-opioid analgesic medication. *World J Cardiol*. 26. Juli 2015;7(7):383–91.
141. Rimon G, Sidhu RS, Lauver DA, Lee JY, Sharma NP, Yuan C, u. a. Coxibs interfere with the action of aspirin by binding tightly to one monomer of cyclooxygenase-1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 5. Januar 2010;107(1):28–33.
142. Hohlfeld T, Saxena A, Schrör K. High on treatment platelet reactivity against aspirin by non-steroidal anti-inflammatory drugs--pharmacological mechanisms and clinical relevance. *Thromb Haemost*. Mai 2013;109(5):825–33.
143. Dollen KN, Schaufler J, Zawinell A. Arzneimittelverordnungen nach Regionen. In: Schwabe U, Paffrath D, Herausgeber. *Arzneiverordnungs-Report 2016: Aktuelle Daten, Kosten, Trends und Kommentare [Internet]*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2016 [zitiert 14. Oktober 2018]. S. 775–82. Verfügbar unter: https://doi.org/10.1007/978-3-662-50351-5_50
144. Schwabe U, Paffrath D, Ludwig W-D, Klauber J, Herausgeber. *Arzneiverordnungs-Report 2018 [Internet]*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2018 [zitiert 26. Oktober 2019]. Verfügbar unter: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-662-57386-0>
145. Chen W-H, Cheng X, Lee P-Y, Ng W, Kwok JY-Y, Tse H-F, u. a. Aspirin resistance and adverse clinical events in patients with coronary artery disease. *Am J Med*. Juli 2007;120(7):631–5.
146. Chen W-H, Lee P-Y, Ng W, Tse H-F, Lau C-P. Aspirin resistance is associated with a high incidence of myonecrosis after non-urgent percutaneous coronary intervention despite clopidogrel pretreatment. *J Am Coll Cardiol*. 17. März 2004;43(6):1122–6.
147. Pusch G, Feher G, Kotai K, Tibold A, Gasztonyi B, Feher A, u. a. Aspirin resistance: focus on clinical endpoints. *J Cardiovasc Pharmacol*. Dezember 2008;52(6):475–84.
148. Zhang JW, Liu WW, McCaffrey TA, He XQ, Liang WY, Chen XH, u. a. Predictors of high on-aspirin platelet reactivity in elderly patients with coronary artery disease. *Clin Interv Aging*. 2017;12:1271–9.
149. Krasopoulos G, Brister SJ, Beattie WS, Buchanan MR. Aspirin „resistance“ and risk of cardiovascular morbidity: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 26. Januar 2008;336(7637):195–8.
150. Fiolaki A, Katsanos AH, Kyritsis AP, Papadaki S, Kosmidou M, Moschonas IC, u. a. High on treatment platelet reactivity to aspirin and clopidogrel in ischemic stroke: A systematic review and meta-analysis. *J Neurol Sci*. 15. Mai 2017;376:112–6.

151. Snoep JD HM. Association of laboratory-defined aspirin resistance with a higher risk of recurrent cardiovascular events: A systematic review and meta-analysis. *Arch Intern Med.* 13. August 2007;167(15):1593–9.
152. Mayer K, Bernlochner I, Braun S, Schulz S, Orban M, Morath T, u. a. Aspirin treatment and outcomes after percutaneous coronary intervention: results of the ISAR-ASPI registry. *J Am Coll Cardiol.* 2. September 2014;64(9):863–71.
153. Zheng ASY, Churilov L, Colley RE, Goh C, Davis SM, Yan B. Association of aspirin resistance with increased stroke severity and infarct size. *JAMA Neurol.* Februar 2013;70(2):208–13.
154. Grottemeyer KH, Scharafinski HW, Husstedt IW. Two-year follow-up of aspirin responder and aspirin non responder. A pilot-study including 180 post-stroke patients. *Thromb Res.* 1. September 1993;71(5):397–403.
155. Mueller MR, Salat A, Stangl P, Murabito M, Pulaki S, Boehm D, u. a. Variable platelet response to low-dose ASA and the risk of limb deterioration in patients submitted to peripheral arterial angioplasty. *Thromb Haemost.* September 1997;78(3):1003–7.
156. Poston RS, Gu J, Brown JM, Gammie JS, White C, Nie L, u. a. Endothelial injury and acquired aspirin resistance as promoters of regional thrombin formation and early vein graft failure after coronary artery bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg.* Januar 2006;131(1):122–30.
157. Lev EI, Patel RT, Maresh KJ, Guthikonda S, Granada J, DeLao T, u. a. Aspirin and clopidogrel drug response in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the role of dual drug resistance. *J Am Coll Cardiol.* 3. Januar 2006;47(1):27–33.
158. Valles J, Santos MT, Fuset MP, Moscardo A, Ruano M, Perez F, u. a. Partial inhibition of platelet thromboxane A2 synthesis by aspirin is associated with myonecrosis in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *Am J Cardiol.* 1. Januar 2007;99(1):19–25.
159. Pinto Slottow TL, Bonello L, Gavini R, Beauzile P, Sushinsky SJ, Scheinowitz M, u. a. Prevalence of aspirin and clopidogrel resistance among patients with and without drug-eluting stent thrombosis. *Am J Cardiol.* 15. August 2009;104(4):525–30.
160. Bouman HJ, van Werkum JW, Breet NJ, ten Cate H, Hackeng CM, ten Berg JM. A case-control study on platelet reactivity in patients with coronary stent thrombosis. *J Thromb Haemost JTH.* Mai 2011;9(5):909–16.
161. Pettersen A-ÅR, Seljeflot I, Abdelnoor M, Arnesen H. High On-Aspirin Platelet Reactivity and Clinical Outcome in Patients With Stable Coronary Artery Disease: Results From ASCET (Aspirin Nonresponsiveness and Clopidogrel Endpoint Trial). *J Am Heart Assoc.* Juni 2012;1(3):e000703.
162. Larsen SB, Grove EL, Neergaard-Petersen S, Würtz M, Hvas A-M, Kristensen SD. Reduced Antiplatelet Effect of Aspirin Does Not Predict Cardiovascular Events in Patients With Stable Coronary Artery Disease. *J Am Heart Assoc.* 5. August 2017;6(8).
163. Reny J-L, Berdague P, Poncet A, Barazer I, Nolli S, Fabbro-Peray P, u. a. Antiplatelet Drug Response Status Does Not Predict Recurrent Ischemic Events in Stable Cardiovascular Patients: Results of the Antiplatelet Drug Resistances and Ischemic Events Study. *Circulation.* 26. Juni 2012;125(25):3201–10.
164. Nagatsuka K, Miyata S, Kada A, Kawamura A, Nakagawara J, Furui E, u. a. Cardiovascular events occur independently of high on-aspirin platelet reactivity and residual COX-1 activity in stable cardiovascular patients. *Thromb Haemost.* 1. August 2016;116(2):356–68.

165. Weber A-A, Przytulski B, Schanz A, Hohlfeld T, Schrör K. Towards a definition of aspirin resistance: a typological approach. *Platelets*. Februar 2002;13(1):37–40.
166. Wong S, Appleberg M, Ward CM, Lewis DR. Aspirin resistance in cardiovascular disease: a review. *Eur J Vasc Endovasc Surg Off J Eur Soc Vasc Surg*. Mai 2004;27(5):456–65.
167. Svenstrup Poulsen T, Kristensen SR, Atar D, Mickley H. A critical appraisal of the phenomenon of aspirin resistance. *Cardiology*. 2005;104(2):83–91.
168. Kuzniatsova N, Shantsila E, Blann A, Lip GYH. A contemporary viewpoint on „aspirin resistance“. *Ann Med*. Dezember 2012;44(8):773–83.
169. Mason PJ, Jacobs AK, Freedman JE. Aspirin resistance and atherothrombotic disease. *J Am Coll Cardiol*. 20. September 2005;46(6):986–93.
170. Bonello L, Tantry US, Marcucci R, Blindt R, Angiolillo DJ, Becker R, u. a. Consensus and future directions on the definition of high on-treatment platelet reactivity to adenosine diphosphate. *J Am Coll Cardiol*. 14. September 2010;56(12):919–33.
171. Bozic-Mijovski M, Rakusa M, Stegnar M. Variation in platelet function testing has a major influence on detection of aspirin resistance in healthy subjects. *Pathophysiol Haemost Thromb*. 2008;36(2):84–90.
172. Seok JI, Joo IS, Yoon JH, Choi YJ, Lee PH, Huh K, u. a. Can aspirin resistance be clinically predicted in stroke patients? *Clin Neurol Neurosurg*. Februar 2008;110(2):110–6.
173. Cattaneo M, Cerletti C, Harrison P, Hayward C p. m., Kenny D, Nugent D, u. a. Recommendations for the Standardization of Light Transmission Aggregometry: A Consensus of the Working Party from the Platelet Physiology Subcommittee of SSC/ISTH. *J Thromb Haemost*. 2013;n/a–n/a.
174. Sharma RK, Voelker DJ, Sharma R, Reddy HK, Dod H, Marsh JD. Evolving role of platelet function testing in coronary artery interventions. *Vasc Health Risk Manag*. 2012;8:65–75.
175. Gross L, Aradi D, Sibbing D. Platelet Function Testing in Patients on Antiplatelet Medications. *Semin Thromb Hemost*. April 2016;42(3):306–20.
176. Valgimigli M, Bueno H, Byrne RA, Collet J-P, Costa F, Jeppsson A, u. a. 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*. 14. Januar 2018;39(3):213–60.
177. Chow S-C, Shao J, Wang H. Sample size calculations in clinical research. 2. Aufl. Bd. Kapitel 3.2.1. Boca Raton: Chapman & Hall/CRC; 2008. 58 S.
178. Funck-Jensen KL, Dalsgaard J, Grove EL, Hvas A-M, Kristensen SD. Increased platelet aggregation and turnover in the acute phase of ST-elevation myocardial infarction. *Platelets*. 2013;24(7):528–37.
179. Zimmermann N, Wenk A, Kim U, Kienzle P, Weber A-A, Gams E, u. a. Functional and biochemical evaluation of platelet aspirin resistance after coronary artery bypass surgery. *Circulation*. 5. August 2003;108(5):542–7.
180. Bundesärztekammer. Richtlinien der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung labormedizinischer Untersuchungen [PDF] [Internet]. 2014 [zitiert 2. September 2019]. Verfügbar unter: <https://www.bundesaerztekammer.de/aerzte/qualitaetssicherung/richtlinien-leitlinien-empfehlungen-stellungnahmen/richtlinien-leitlinien-empfehlungen-zur-qualitaetssicherung/labor/>

181. Linnemann B, Schwonberg J, Mani H, Prochnow S, Lindhoff-Last E. Standardization of light transmittance aggregometry for monitoring antiplatelet therapy: an adjustment for platelet count is not necessary. *J Thromb Haemost JTH*. April 2008;6(4):677–83.
182. Merolla M, Nardi MA, Berger JS. Centrifugation Speed Affects Light Transmission Aggregometry. *Int J Lab Hematol*. Februar 2012;34(1):81–5.
183. Schrör K, Seidel H. Blood-vessel wall arachidonate metabolism and its pharmacological modification in a new in vitro assay system. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. Februar 1988;337(2):177–82.
184. Hartinger J, Novotny R, Bilkova J, Kvasnicka T, Mitas P, Sima M, u. a. The Role of Dipyron in the High Development of On-Treatment Platelet Reactivity in Acetylsalicylic Acid Treated Patients Undergoing Peripheral Artery Revascularization. *Med Princ Pract Int J Kuwait Univ Health Sci Cent*. 13. Mai 2018;
185. Schoergenhofer C, Hobl E-L, Schwameis M, Gelbenegger G, Staudinger T, Heinz G, u. a. Acetylsalicylic acid in critically ill patients: a cross-sectional and a randomized trial. *Eur J Clin Invest*. Juli 2017;47(7):504–12.
186. Pea F, Pavan F, Furlanut M. Clinical relevance of pharmacokinetics and pharmacodynamics in cardiac critical care patients. *Clin Pharmacokinet*. 2008;47(7):449–62.
187. Lüthy C, Multhaupt M, Oetliker O, Perisic M. Differential effect of acetylsalicylic acid and dipyron on prostaglandin production in human fibroblast cultures. *Br J Pharmacol*. August 1983;79(4):849–54.
188. Campos C, de Gregorio R, García-Nieto R, Gago F, Ortiz P, Alemany S. Regulation of cyclooxygenase activity by metamizol. *Eur J Pharmacol*. 13. August 1999;378(3):339–47.
189. Börgermann J, Kanashnik A, Sossdorf M, Gummert J, Lösche W. Individual variability of response and non-response to acetyl salicylic acid after cardiac surgery. *Platelets*. 2010;21(8):610–5.
190. Liu W, Cao D, Oh SF, Serhan CN, Kulmacz RJ. Divergent cyclooxygenase responses to fatty acid structure and peroxide level in fish and mammalian prostaglandin H synthases. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. Juni 2006;20(8):1097–108.
191. Wilczyński M, Wybraniec MT, Sanak M, Góral J, Mizia-Stec K. Metamizole and Platelet Inhibition by Aspirin Following On-Pump Coronary Artery Bypass Grafting. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 7. Juni 2017;
192. Gengo FM, Rubin L, Robson M, Rainka M, Gengo MF, Mager DE, u. a. Effects of ibuprofen on the magnitude and duration of aspirin's inhibition of platelet aggregation: clinical consequences in stroke prophylaxis. *J Clin Pharmacol*. Januar 2008;48(1):117–22.
193. Bushra R, Aslam N. An Overview of Clinical Pharmacology of Ibuprofen. *Oman Med J*. Juli 2010;25(3):155–1661.
194. Online GL. Piroxicam AbZ 20 mg Tabletten | Gelbe Liste [Internet]. Gelbe Liste Online. [zitiert 20. Oktober 2019]. Verfügbar unter: https://www.gelbe-liste.de/produkte/Piroxicam-AbZ-20-mg-Tabletten_503100
195. Online GL. Meloxicam-ratiopharm® 15 mg Tabletten | Gelbe Liste [Internet]. Gelbe Liste Online. [zitiert 20. Oktober 2019]. Verfügbar unter: https://www.gelbe-liste.de/produkte/Meloxicam-ratiopharm-15-mg-Tabletten_477053
196. Riendeau D, Charleson S, Cromlish W, Mancini JA, Wong E, Guay J. Comparison of the cyclooxygenase-1 inhibitory properties of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and selective COX-2 inhibitors, using sensitive

- microsomal and platelet assays. *Can J Physiol Pharmacol*. September 1997;75(9):1088–95.
197. Goltsov A, Maryashkin A, Swat M, Kosinsky Y, Humphery-Smith I, Demin O, u. a. Kinetic modelling of NSAID action on COX-1: focus on in vitro/in vivo aspects and drug combinations. *Eur J Pharm Sci Off J Eur Fed Pharm Sci*. 31. Januar 2009;36(1):122–36.
 198. Larsen SB, Neergaard-Petersen S, Grove EL, Kristensen SD, Hvas A-M. Increased platelet aggregation and serum thromboxane levels in aspirin-treated patients with prior myocardial infarction. *Thromb Haemost*. Juli 2012;108(1):140–7.
 199. Niccoli G, Giubilato S, Leo A, Cosentino N, Fracassi F, Cataneo L, u. a. Predictors of thromboxane levels in patients with non-ST-elevation acute coronary syndromes on chronic aspirin therapy. *Thromb Haemost*. Juli 2012;108(1):133–9.
 200. Katugampola SD, Davenport AP. Thromboxane receptor density is increased in human cardiovascular disease with evidence for inhibition at therapeutic concentrations by the AT(1) receptor antagonist losartan. *Br J Pharmacol*. Dezember 2001;134(7):1385–92.
 201. Dorn GW 2nd, Liel N, Trask JL, Mais DE, Assey ME, Halushka PV. Increased platelet thromboxane A2/prostaglandin H2 receptors in patients with acute myocardial infarction. *Circulation*. Januar 1990;81(1):212–8.
 202. Jaschonek K, Karsch KR, Weisenberger H, Tidow S, Faul C, Renn W. Platelet prostacyclin binding in coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. August 1986;8(2):259–66.
 203. Sostres C, Gargallo CJ, Lanas A. Aspirin, cyclooxygenase inhibition and colorectal cancer. *World J Gastrointest Pharmacol Ther*. 6. Februar 2014;5(1):40–9.
 204. Eldor A, Zylber-Katz E, Levy M. The effect of oral administration of dipyron on the capacity of blood platelets to synthesize thromboxane A2 in man. *Eur J Clin Pharmacol*. 1984;26(2):171–6.
 205. Schmitz A, Romann L, Kienbaum P, Pavlaković G, Werdehausen R, Hohlfeld T. Dipyron (metamizole) markedly interferes with platelet inhibition by aspirin in patients with acute and chronic pain: A case-control study. *Eur J Anaesthesiol*. 2017;34(5):288–96.
 206. Martínez C, Andreu I, Amo G, Miranda MA, Esguevillas G, Torres MJ, u. a. Gender and functional CYP2C and NAT2 polymorphisms determine the metabolic profile of metamizole. *Biochem Pharmacol*. 1. Dezember 2014;92(3):457–66.
 207. Di Minno G, Silver MJ, Murphy S. Monitoring the entry of new platelets into the circulation after ingestion of aspirin. *Blood*. Juni 1983;61(6):1081–5.
 208. Di Minno MND, Lupoli R, Palmieri NM, Russolillo A, Buonauro A, Di Minno G. Aspirin resistance, platelet turnover, and diabetic angiopathy: a 2011 update. *Thromb Res*. März 2012;129(3):341–4.
 209. Guthikonda S, Lev EI, Patel R, DeLao T, Bergeron AL, Dong J-F, u. a. Reticulated platelets and uninhibited COX-1 and COX-2 decrease the antiplatelet effects of aspirin. *J Thromb Haemost JTH*. März 2007;5(3):490–6.
 210. Hoefler T, Armstrong PC, Finsterbusch M, Chan MV, Kirkby NS, Warner TD. Drug-Free Platelets Can Act as Seeds for Aggregate Formation During Antiplatelet Therapy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. Oktober 2015;35(10):2122–33.

211. Xu K, Chan NC, Hirsh J, Ginsberg JS, Bhagirath V, Kruger P, u. a. Quantifying immature platelets as markers of increased platelet production after coronary artery bypass grafting surgery. *Eur J Haematol*. September 2018;101(3):362–7.
212. Mijovic R, Kovacevic N, Zarkov M, Stosic Z, Cabarkapa V, Mitic G. Reticulated platelets and antiplatelet therapy response in diabetic patients. *J Thromb Thrombolysis*. August 2015;40(2):203–10.
213. Dymicka-Piekarska V, Kemona H, Guzinska-Ustymowicz K. Does surgery affect certain mediators of thrombocytopoiesis in patients with colorectal cancer? *Hepatogastroenterology*. August 2007;54(77):1407–11.
214. Freynhofer MK, Gruber SC, Grove EL, Weiss TW, Wojta J, Huber K. Antiplatelet drugs in patients with enhanced platelet turnover: biomarkers versus platelet function testing. *Thromb Haemost*. 31. August 2015;114(3):459–68.
215. Freynhofer MK, Iliev L, Bruno V, Rohla M, Egger F, Weiss TW, u. a. Platelet turnover predicts outcome after coronary intervention. *Thromb Haemost*. 3. Mai 2017;117(5):923–33.
216. Armstrong PC, Hoefler T, Knowles RB, Tucker AT, Hayman MA, Ferreira PM, u. a. Newly Formed Reticulated Platelets Undermine Pharmacokinetically Short-Lived Antiplatelet Therapies. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. Mai 2017;37(5):949–56.
217. Cox D, Maree AO, Dooley M, Conroy R, Byrne MF, Fitzgerald DJ. Effect of enteric coating on antiplatelet activity of low-dose aspirin in healthy volunteers. *Stroke*. August 2006;37(8):2153–8.
218. Haastrup PF, Grønlykke T, Jarbøl DE. Enteric coating can lead to reduced antiplatelet effect of low-dose acetylsalicylic acid. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. März 2015;116(3):212–5.
219. Benedek IH, Joshi AS, Pieniaszek HJ, King SY, Kornhauser DM. Variability in the pharmacokinetics and pharmacodynamics of low dose aspirin in healthy male volunteers. *J Clin Pharmacol*. Dezember 1995;35(12):1181–6.
220. Norgard NB. Obesity and Altered Aspirin Pharmacology. *Clin Pharmacokinet*. 14. November 2017;
221. Kotani K, Caccavello R, Hermo R, Yamada T, Taniguchi N, Gugliucci A. Serum cholesterol concentration associated with aspirin esterase activity in older people: preliminary data. *Int J Med Sci*. 10. Mai 2010;7(2):90–3.
222. Mattiello T, Guerriero R, Lotti LV, Trifirò E, Felli MP, Barbarulo A, u. a. Aspirin extrusion from human platelets through multidrug resistance protein-4-mediated transport: evidence of a reduced drug action in patients after coronary artery bypass grafting. *J Am Coll Cardiol*. 9. August 2011;58(7):752–61.
223. Jedlitschky G, Tirschmann K, Lubenow LE, Nieuwenhuis HK, Akkerman JWN, Greinacher A, u. a. The nucleotide transporter MRP4 (ABCC4) is highly expressed in human platelets and present in dense granules, indicating a role in mediator storage. *Blood*. 1. Dezember 2004;104(12):3603–10.
224. Massimi I, Guerriero R, Lotti LV, Lulli V, Borgognone A, Romani F, u. a. Aspirin influences megakaryocytic gene expression leading to up-regulation of multidrug resistance protein-4 in human platelets. *Br J Clin Pharmacol*. Dezember 2014;78(6):1343–53.
225. Yassin AS, Abubakar H, Mishra T, Subahi A, Hartman M, Ahmed A, u. a. Aspirin Resistance: Cardiovascular Risk Game Changer. *Am J Ther*. 3. Mai 2018;

226. Weksler BB, Pett SB, Alonso D, Richter RC, Stelzer P, Subramanian V, u. a. Differential inhibition by aspirin of vascular and platelet prostaglandin synthesis in atherosclerotic patients. *N Engl J Med.* 7. April 1983;308(14):800–5.
227. Siebert DJ, Bochner F, Imhoff DM, Watts S, Lloyd JV, Field J, u. a. Aspirin kinetics and platelet aggregation in man. *Clin Pharmacol Ther.* März 1983;33(3):367–74.
228. Herlitz J, Tóth PP, Naesdal J. Low-dose aspirin therapy for cardiovascular prevention: quantification and consequences of poor compliance or discontinuation. *Am J Cardiovasc Drugs Drugs Devices Interv.* 2010;10(2):125–41.
229. Packard KA, Hilleman DE. Adherence to Therapies for Secondary Prevention of Cardiovascular Disease: A Focus on Aspirin. *Cardiovasc Ther.* 30. Juli 2016;
230. Hennekens CH, Schneider WR, Hebert PR, Tantry US, Gurbel PA. Hypothesis formulation from subgroup analyses: nonadherence or nonsteroidal anti-inflammatory drug use explains the lack of clinical benefit of aspirin on first myocardial infarction attributed to „aspirin resistance“. *Am Heart J.* Mai 2010;159(5):744–8.
231. Pratt S, Thompson VJ, Elkin EP, Næsdal J, Sörstadius E. The impact of upper gastrointestinal symptoms on nonadherence to, and discontinuation of, low-dose acetylsalicylic acid in patients with cardiovascular risk. *Am J Cardiovasc Drugs Drugs Devices Interv.* 2010;10(5):281–8.
232. Moberg C, Naesdal J, Svedberg L-E, Duchateau D, Harte N. Impact of gastrointestinal problems on adherence to low-dose acetylsalicylic Acid: a quantitative study in patients with cardiovascular risk. *The Patient.* 2011;4(2):103–13.
233. Halushka MK, Walker LP, Halushka PV. Genetic variation in cyclooxygenase 1: effects on response to aspirin. *Clin Pharmacol Ther.* Januar 2003;73(1):122–30.
234. Maree AO, Curtin RJ, Chubb A, Dolan C, Cox D, O'Brien J, u. a. Cyclooxygenase-1 haplotype modulates platelet response to aspirin. *J Thromb Haemost JTH.* Oktober 2005;3(10):2340–5.
235. Pettinella C, Romano M, Stuppia L, Santilli F, Liani R, Davì G. Cyclooxygenase-1 haplotype C50T/A-842G does not affect platelet response to aspirin. *Thromb Haemost.* April 2009;101(4):687–90.
236. Szczeklik A, Undas A, Sanak M, Frołow M, Wegrzyn W. Relationship between bleeding time, aspirin and the PIA1/A2 polymorphism of platelet glycoprotein IIIa. *Br J Haematol.* September 2000;110(4):965–7.
237. Goodman T, Ferro A, Sharma P. Pharmacogenetics of aspirin resistance: a comprehensive systematic review. *Br J Clin Pharmacol.* August 2008;66(2):222–32.
238. Frelinger AL 3rd, Furman MI, Linden MD, Li Y, Fox ML, Barnard MR, u. a. Residual arachidonic acid-induced platelet activation via an adenosine diphosphate-dependent but cyclooxygenase-1- and cyclooxygenase-2-independent pathway: a 700-patient study of aspirin resistance. *Circulation.* 27. Juni 2006;113(25):2888–96.
239. Taylor* ML, Ilton MK, Misso NLA, Watkins DN, Hung J, Thompson PJ. The effect of aspirin on thrombin stimulated platelet adhesion receptor expression and the role of neutrophils. *Br J Clin Pharmacol.* August 1998;46(2):139–45.
240. Ibanez B, James S, Agewall S, Antunes MJ, Bucciarelli-Ducci C, Bueno H, u. a. 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-

- segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 26. August 2017;
241. Schrör K. Aspirin and platelets: the antiplatelet action of aspirin and its role in thrombosis treatment and prophylaxis. *Semin Thromb Hemost*. 1997;23(4):349–56.
 242. Ratnatunga CP, Edmondson SF, Rees GM, Kovacs IB. High-dose aspirin inhibits shear-induced platelet reaction involving thrombin generation. *Circulation*. März 1992;85(3):1077–82.
 243. Murray JJ, Nowak J, Oates JA, FitzGerald GA. Platelet-vessel wall interactions in individuals who smoke cigarettes. *Adv Exp Med Biol*. 1990;273:189–98.
 244. Łabuz-Roszak B, Pierzchała K, Tyrpień K. Resistance to acetylsalicylic acid in patients with type 2 diabetes mellitus is associated with lipid disorders and history of current smoking. *J Endocrinol Invest*. April 2014;37(4):331–8.
 245. Davì G, Averna M, Catalano I, Barbagallo C, Ganci A, Notarbartolo A, u. a. Increased thromboxane biosynthesis in type IIa hypercholesterolemia. *Circulation*. Mai 1992;85(5):1792–8.
 246. Salama MM, Morad A-RM, Saleh MA, Sabri NA, Zaki MM, ElSafady LA. Resistance to low-dose aspirin therapy among patients with acute coronary syndrome in relation to associated risk factors. *J Clin Pharm Ther*. Dezember 2012;37(6):630–6.
 247. Guagnano MT, Ferroni P, Santilli F, Paoletti V, Manigrasso MR, Pescara L, u. a. Determinants of platelet activation in hypertensives with microalbuminuria. *Free Radic Biol Med*. 1. April 2009;46(7):922–7.
 248. Minuz P, Patrignani P, Gaino S, Degan M, Menapace L, Tommasoli R, u. a. Increased oxidative stress and platelet activation in patients with hypertension and renovascular disease. *Circulation*. 26. November 2002;106(22):2800–5.
 249. Akturk IF, Caglar FN, Erturk M, Tuncer N, Yalcın AA, Surgit O, u. a. Hypertension as a risk factor for aspirin and clopidogrel resistance in patients with stable coronary artery disease. *Clin Appl Thromb Off J Int Acad Clin Appl Thromb*. Oktober 2014;20(7):749–54.
 250. Tasdemir E, Toptas T, Demir C, Esen R, Atmaca M. Aspirin resistance in patients with type II diabetes mellitus. *Ups J Med Sci*. März 2014;119(1):25–31.
 251. Angiolillo DJ, Bernardo E, Ramírez C, Costa MA, Sabaté M, Jimenez-Quevedo P, u. a. Insulin therapy is associated with platelet dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus on dual oral antiplatelet treatment. *J Am Coll Cardiol*. 18. Juli 2006;48(2):298–304.
 252. Cohen HW, Crandall JP, Hailpern SM, Billett HH. Aspirin resistance associated with HbA1c and obesity in diabetic patients. *J Diabetes Complications*. Juni 2008;22(3):224–8.
 253. Ertugrul DT, Tural E, Yildiz M, Akin O, Yalçın AA, Ure OS, u. a. Aspirin resistance is associated with glycemic control, the dose of aspirin, and obesity in type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. Juni 2010;95(6):2897–901.
 254. Pulcinelli FM, Biasucci LM, Riondino S, Giubilato S, Leo A, Di Renzo L, u. a. COX-1 sensitivity and thromboxane A2 production in type 1 and type 2 diabetic patients under chronic aspirin treatment. *Eur Heart J*. Mai 2009;30(10):1279–86.
 255. Watala C, Pluta J, Golanski J, Rozalski M, Czyz M, Trojanowski Z, u. a. Increased protein glycation in diabetes mellitus is associated with decreased aspirin-mediated protein acetylation and reduced sensitivity of blood platelets to aspirin. *J Mol Med Berl Ger*. Februar 2005;83(2):148–58.
 256. Sanguigni V, Pignatelli P, Caccese D, Pulcinelli FM, Lenti L, Magnaterra R, u. a. Increased superoxide anion production by platelets in hypercholesterolemic patients. *Thromb Haemost*. Mai 2002;87(5):796–801.

257. Krötz F, Sohn H-Y, Pohl U. Reactive oxygen species: players in the platelet game. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* November 2004;24(11):1988–96.
258. Davì G, Patrono C. Platelet activation and atherothrombosis. *N Engl J Med.* 13. Dezember 2007;357(24):2482–94.
259. Larsen SB, Grove EL, Kristensen SD, Hvas A-M. Reduced antiplatelet effect of aspirin is associated with low-grade inflammation in patients with coronary artery disease. *Thromb Haemost.* 2. Mai 2013;109(5):920–9.
260. Bauer J, Ripperger A, Frantz S, Ergün S, Schwedhelm E, Benndorf RA. Pathophysiology of isoprostanes in the cardiovascular system: implications of isoprostane-mediated thromboxane A2 receptor activation. *Br J Pharmacol.* Juli 2014;171(13):3115–31.
261. Patrignani P. Aspirin insensitive eicosanoid biosynthesis in cardiovascular disease. *Thromb Res.* 15. Juni 2003;110(5–6):281–6.
262. McCullough PA, Vasudevan A, Lopez LR, Swift C, Peterson M, Bennett-Firmin J, u. a. Oxidative stress reflected by increased F2-isoprostanes is associated with increasing urinary 11-dehydro thromboxane B2 levels in patients with coronary artery disease. *Thromb Res.* Dezember 2016;148:85–8.
263. Vasudevan A, Bottiglieri T, Tecson KM, Sathyamoorthy M, Schussler JM, Velasco CE, u. a. Residual thromboxane activity and oxidative stress: influence on mortality in patients with stable coronary artery disease. *Coron Artery Dis.* Juni 2017;28(4):287–93.
264. Lopez LR, Guyer KE, Torre IGDL, Pitts KR, Matsuura E, Ames PR. Platelet thromboxane (11-dehydro-Thromboxane B2) and aspirin response in patients with diabetes and coronary artery disease. *World J Diabetes.* 15. April 2014;5(2):115–27.
265. Censarek P, Freidel K, Udelhoven M, Ku S-J, Hohlfeld T, Meyer-Kirchrath J, u. a. Cyclooxygenase COX-2a, a novel COX-2 mRNA variant, in platelets from patients after coronary artery bypass grafting. *Thromb Haemost.* November 2004;92(5):925–8.
266. Rocca B, Secchiero P, Ciabattini G, Ranelletti FO, Catani L, Guidotti L, u. a. Cyclooxygenase-2 expression is induced during human megakaryopoiesis and characterizes newly formed platelets. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 28. Mai 2002;99(11):7634–9.
267. Dale GL. Platelet kinetics. *Curr Opin Hematol.* September 1997;4(5):330–4.
268. Mitchell JA, Akarasereenont P, Thiemermann C, Flower RJ, Vane JR. Selectivity of nonsteroidal antiinflammatory drugs as inhibitors of constitutive and inducible cyclooxygenase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 15. Dezember 1993;90(24):11693–7.
269. Otto JC, Smith WL. Prostaglandin endoperoxide synthases-1 and -2. *J Lipid Mediat Cell Signal.* Oktober 1995;12(2–3):139–56.
270. Riondino S, Trifirò E, Principessa L, Mascioletti S, Di Renzo L, Gaudio C, u. a. Lack of biological relevance of platelet cyclooxygenase-2 dependent thromboxane A2 production. *Thromb Res.* 2008;122(3):359–65.
271. Zhou Y, Luo W, Zhang Y, Li H, Huang D, Liu B. Cyclo-oxygenase-1 or -2-mediated metabolism of arachidonic acid in endothelium-dependent contraction of mouse arteries. *Exp Physiol.* Juli 2013;98(7):1225–34.
272. Hla T, Neilson K. Human cyclooxygenase-2 cDNA. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 15. August 1992;89(16):7384–8.
273. Evangelista V, Manarini S, Di Santo A, Capone ML, Ricciotti E, Di Francesco L, u. a. De novo synthesis of cyclooxygenase-1 counteracts the suppression of platelet thromboxane biosynthesis by aspirin. *Circ Res.* 17. März 2006;98(5):593–5.

274. Maghni K, Carrier J, Cloutier S, Sirois P. Cell-cell interactions between platelets, macrophages, eosinophils and natural killer cells in thromboxane A2 biosynthesis. *J Lipid Mediat.* April 1993;6(1–3):321–32.
275. Zou M, Angés C. Cell-cell interaction between platelets and IL-1 beta-stimulated vascular smooth muscle cells in synthesis of thromboxane A2. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* Februar 1997;56(2):85–91.
276. Schwabe U, Paffrath D, Ludwig W-D, Klauber J, Herausgeber. *Arzneiverordnungs-Report 2017* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2017 [zitiert 8. November 2018]. Verfügbar unter: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-662-54630-7>
277. Kovács EG, Katona E, Bereczky Z, Homoródi N, Balogh L, Tóth E, u. a. New direct and indirect methods for the detection of cyclooxygenase 1 acetylation by aspirin; the lack of aspirin resistance among healthy individuals. *Thromb Res.* April 2013;131(4):320–4.
278. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Position paper on the regulatory requirements for the authorisation of low-dose modified release ASA formulations in the secondary prevention of cardiovascular events. EMEA/CPMP/EWP/282/02/Final. [PDF] [Internet]. [zitiert 1. April 2012]. Verfügbar unter: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003340.pdf.
279. Kovács EG, Katona É, Bereczky Z, Homoródi N, Balogh L, Tóth E, u. a. Evaluation of laboratory methods routinely used to detect the effect of aspirin against new reference methods. *Thromb Res.* Mai 2014;133(5):811–6.
280. Szczeklik W, Stodólkiewicz E, Rzeszutko M, Tomala M, Chrustowicz A, Żmudka K, u. a. Urinary 11-Dehydro-Thromboxane B2 as a Predictor of Acute Myocardial Infarction Outcomes: Results of Leukotrienes and Thromboxane In Myocardial Infarction (LTIMI) Study. *J Am Heart Assoc.* 01 2016;5(8).
281. Liu H, Xu Z, Sun C, Chen Q, Bao N, Chen W, u. a. Perioperative urinary thromboxane metabolites and outcome of coronary artery bypass grafting: a nested case-control study. *BMJ Open.* 30. August 2018;8(8):e021219.
282. Pastori D, Pignatelli P, Farcomeni A, Cangemi R, Hiatt WR, Bartimoccia S, u. a. Urinary 11-dehydro-thromboxane B2 is associated with cardiovascular events and mortality in patients with atrial fibrillation. *Am Heart J.* September 2015;170(3):490-497.e1.
283. Wang N, Vendrov KC, Simmons BP, Schuck RN, Stouffer GA, Lee CR. Urinary 11-dehydro-thromboxane B2 levels are associated with vascular inflammation and prognosis in atherosclerotic cardiovascular disease. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* Januar 2018;134:24–31.
284. Rozalski M, Watala C, Golanski J. Various laboratory protocols for measuring thromboxane A2 generation to detect the effectiveness of acetylsalicylic acid therapy: a comparative study. *Blood Coagul Fibrinolysis Int J Haemost Thromb.* Januar 2014;25(1):46–51.
285. Frontroth JP. Light transmission aggregometry. *Methods Mol Biol Clifton NJ.* 2013;992:227–40.
286. Schjerning Olsen A-M, Fosbøl EL, Lindhardsen J, Andersson C, Folke F, Nielsen MB, u. a. Cause-Specific Cardiovascular Risk Associated with Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs among Myocardial Infarction Patients - A Nationwide Study. *PLoS ONE* [Internet]. 30. Januar 2013 [zitiert 1. August 2013];8(1). Verfügbar unter: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3559685/>

287. Ashley KE, Lincoff AM. Pharmacologic inhibition of platelet function: correlation between in vitro tests of platelet function and clinical outcomes. *Am J Cardiovasc Drugs Drugs Devices Interv.* 2008;8(5):283–95.
288. Cerletti C, Tamburrelli C, Izzi B, Gianfagna F, de Gaetano G. Platelet-leukocyte interactions in thrombosis. *Thromb Res.* März 2012;129(3):263–6.
289. Ren F, Mu N, Zhang X, Tan J, Li L, Zhang C, u. a. Increased Platelet-leukocyte Aggregates Are Associated With Myocardial No-reflow in Patients With ST Elevation Myocardial Infarction. *Am J Med Sci.* 2016;352(3):261–6.
290. Zhou G, Marathe GK, Willard B, McIntyre TM. Intracellular erythrocyte platelet-activating factor acetylhydrolase I inactivates aspirin in blood. *J Biol Chem.* 7. Oktober 2011;286(40):34820–9.
291. Dannenberg L, Petzold T, Achilles A, Naguib D, Zako S, Helten C, u. a. Dose reduction, oral application, and order of intake to preserve aspirin antiplatelet effects in dipyron co-medicated chronic artery disease patients. *Eur J Clin Pharmacol.* Januar 2019;75(1):13–20.
292. Elmahdy MF, Antonucci D. ARCTIC: Additional proof against antiplatelet adjusted therapy. *Glob Cardiol Sci Pract.* 1. November 2013;2013(2):130–2.
293. Laine L, Takeuchi K, Tarnawski A. Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside. *Gastroenterology.* Juli 2008;135(1):41–60.
294. Serebruany VL, Steinhubl SR, Berger PB, Malinin AI, Baggish JS, Bhatt DL, u. a. Analysis of risk of bleeding complications after different doses of aspirin in 192,036 patients enrolled in 31 randomized controlled trials. *Am J Cardiol.* 15. Mai 2005;95(10):1218–22.
295. Bethel MA, Harrison P, Sourij H, Sun Y, Tucker L, Kennedy I, u. a. Randomized controlled trial comparing impact on platelet reactivity of twice-daily with once-daily aspirin in people with Type 2 diabetes. *Diabet Med J Br Diabet Assoc.* Februar 2016;33(2):224–30.
296. Capodanno D, Patel A, Dharmashankar K, Ferreiro JL, Ueno M, Kodali M, u. a. Pharmacodynamic effects of different aspirin dosing regimens in type 2 diabetes mellitus patients with coronary artery disease. *Circ Cardiovasc Interv.* 1. April 2011;4(2):180–7.
297. Rocca B, Dragani A, Pagliaccia F. Identifying determinants of variability to tailor aspirin therapy. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* März 2013;11(3):365–79.
298. Lebois M, Josefsson EC. Regulation of platelet lifespan by apoptosis. *Platelets.* September 2016;27(6):497–504.
299. Sychev DA, Ashraf GM, Svistunov AA, Maksimov ML, Tarasov VV, Chubarev VN, u. a. The cytochrome P450 isoenzyme and some new opportunities for the prediction of negative drug interaction in vivo. *Drug Des Devel Ther.* 2018;12:1147–56.
300. Mega JL, Close SL, Wiviott SD, Shen L, Hockett RD, Brandt JT, u. a. Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel. *N Engl J Med.* 22. Januar 2009;360(4):354–62.
301. Squizzato A, Bellesini M, Takeda A, Middeldorp S, Donadini MP. Clopidogrel plus aspirin versus aspirin alone for preventing cardiovascular events. *Cochrane Database Syst Rev.* 14 2017;12:CD005158.
302. Randomised placebo-controlled trial of effect of eptifibatid on complications of percutaneous coronary intervention: IMPACT-II. Integrilin to Minimise Platelet Aggregation and Coronary Thrombosis-II. *Lancet Lond Engl.* 17. Mai 1997;349(9063):1422–8.
303. GmbH A-MDA. Vorapaxar: Neuer Thrombin-Rezeptorantagonist zugelassen [Internet]. *Pharmazeutische Zeitung online.* [zitiert 23. Juli 2019]. Verfügbar

- unter: <https://www.pharmazeutische-zeitung.de/2015-02/vorapaxar-neuer-thrombin-rezeptorantagonist-zugelassen/>
304. Serebruany VL, Fortmann SD, Kim MH. Vorapaxar and optimal aspirin dose: The FDA outlook. *Int J Cardiol.* 15. Januar 2016;203:903–5.
 305. Anand SS, Caron F, Eikelboom JW, Bosch J, Dyal L, Aboyans V, u. a. Major Adverse Limb Events and Mortality in Patients With Peripheral Artery Disease: The COMPASS Trial. *J Am Coll Cardiol.* 22. Mai 2018;71(20):2306–15.
 306. Connolly SJ, Eikelboom JW, Bosch J, Dagenais G, Dyal L, Lanan F, u. a. Rivaroxaban with or without aspirin in patients with stable coronary artery disease: an international, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Lond Engl.* 20. Mai 2018;391(10117):205–18.
 307. Kearney PM, Baigent C, Godwin J, Halls H, Emberson JR, Patrono C. Do selective cyclo-oxygenase-2 inhibitors and traditional non-steroidal anti-inflammatory drugs increase the risk of atherothrombosis? Meta-analysis of randomised trials. *BMJ.* 3. Juni 2006;332(7553):1302–8.
 308. Trelle S, Reichenbach S, Wandel S, Hildebrand P, Tschannen B, Villiger PM, u. a. Cardiovascular safety of non-steroidal anti-inflammatory drugs: network meta-analysis. *BMJ [Internet].* 1. Januar 2011 [zitiert 24. April 2013];342. Verfügbar unter: <http://www.bmj.com/content/342/bmj.c7086.abstract>
 309. Coxib and traditional NSAID Trialists' (CNT) Collaboration, Bhala N, Emberson J, Merhi A, Abramson S, Arber N, u. a. Vascular and upper gastrointestinal effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs: meta-analyses of individual participant data from randomised trials. *Lancet Lond Engl.* 31. August 2013;382(9894):769–79.
 310. Antman EM, Bennett JS, Daugherty A, Furberg C, Roberts H, Taubert KA, u. a. Use of nonsteroidal antiinflammatory drugs: an update for clinicians: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation.* 27. März 2007;115(12):1634–42.
 311. Task Force Members, Montalescot G, Sechtem U, Achenbach S, Andreotti F, Arden C, u. 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. *Eur Heart J.* Oktober 2013;34(38):2949–3003.
 312. Hoffmann F, Schmiemann G. Pain medication in German nursing homes: a whole lot of metamizole. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* Juni 2016;25(6):646–51.
 313. Graham GG, Davies MJ, Day RO, Mohamudally A, Scott KF. The modern pharmacology of paracetamol: therapeutic actions, mechanism of action, metabolism, toxicity and recent pharmacological findings. *Inflammopharmacology.* Juni 2013;21(3):201–32.
 314. Smith HS. Potential analgesic mechanisms of acetaminophen. *Pain Physician.* Februar 2009;12(1):269–80.
 315. Gaziano JM, Gibson CM. Potential for drug-drug interactions in patients taking analgesics for mild-to-moderate pain and low-dose aspirin for cardioprotection. *Am J Cardiol.* 8. Mai 2006;97(9A):23–9.
 316. Schüchen RH, Mücke M, Marinova M, Kravchenko D, Häuser W, Radbruch L, u. a. Systematic review and meta-analysis on non-opioid analgesics in palliative medicine. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 29. Oktober 2018;
 317. Gupta A, Jakobsson J. Acetaminophen, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, and cyclooxygenase-2 selective inhibitors: an update. *Plast Reconstr Surg.* Oktober 2014;134(4 Suppl 2):24S-31S.

318. Chan AT, Manson JE, Albert CM, Chae CU, Rexrode KM, Curhan GC, u. a. Nonsteroidal antiinflammatory drugs, acetaminophen, and the risk of cardiovascular events. *Circulation*. 28. März 2006;113(12):1578–87.
319. Jaeschke H. Acetaminophen: Dose-Dependent Drug Hepatotoxicity and Acute Liver Failure in Patients. *Dig Dis Basel Switz*. 2015;33(4):464–71.
320. Krashin D, Murinova N, Jumelle P, Ballantyne J. Opioid risk assessment in palliative medicine. *Expert Opin Drug Saf*. Juli 2015;14(7):1023–33.
321. Strumpf M, Willweber-Strumpf A, Herberg KW, Zenz M. [Safety-relevant performance of patients on chronic opioid therapy]. *Schmerz Berl Ger*. Oktober 2005;19(5):426–33.
322. Spiliopoulos S, Pastromas G. Current status of high on-treatment platelet reactivity in patients with coronary or peripheral arterial disease: Mechanisms, evaluation and clinical implications. *World J Cardiol*. 26. Dezember 2015;7(12):912–21.
323. Wechselwirkungs-Check Ergebnis [Internet]. Apotheken Umschau. 2015 [zitiert 25. August 2018]. Verfügbar unter: <https://www.apothekenumschau.de/Medikamente/Wechselwirkungs-Check-Ergebnis-503417.html>

6 Anhang

| | | | |
|------|---------|--------------|-----------------|
| Name | Vorname | Geburtsdatum | Probandennummer |
|------|---------|--------------|-----------------|

Einwilligungserklärung zur wissenschaftlichen Untersuchung von Blutspenden

Führt die Einnahme von Metamizol zum Wirkverlust von niedrigdosierter Acetylsalicylsäure? Eine Patientenbeobachtung

Ich bin damit einverstanden, dass Blutproben entnommen werden, die für wissenschaftliche Zwecke verwendet werden. Über resultierende Risiken bin ich aufgeklärt worden.

Unabhängig vom Untersuchungsergebnis ist mir bewusst, dass meine eventuelle Teilnahme an der Studie vollkommen freiwillig ist und mein vorheriges Einverständnis erfordert. Ich bin außerdem darüber informiert worden, dass diese Proben nicht kommerziell verwertet werden.

Ich bin damit einverstanden,

- dass die medizinischen Daten aus der Untersuchung meiner Blutproben sowie einige persönliche Daten aufgezeichnet werden.
- dass die wissenschaftlichen Daten aus der Untersuchung meiner Blutproben in anonymisierter Form, d.h. ohne Namen des Spenders, zur wissenschaftlichen Auswertung und zur Überprüfung an das Institut für Pharmakologie und Klinische Pharmakologie der Heinrich-Heine-Universität weitergegeben werden können.
- dass die Ergebnisse der Studie in anonymisierter Form für eine wissenschaftliche Publikation verwendet werden dürfen.

Ja, ich bin damit einverstanden, dass die Blutproben für weitere Tests im Rahmen der beschriebenen wissenschaftlichen Untersuchungen aufbewahrt werden.

Nein, ich bin mit nicht damit einverstanden, dass die Blutproben für weitere Tests aufbewahrt werden.

Mir ist versichert worden, dass die Vorschriften des Datenschutzes beim Umgang mit den Daten eingehalten werden.

Ich erkläre mich hiermit mit der Untersuchung meiner Blutproben einverstanden.

Ich habe eine Kopie der Einwilligungserklärung und der Patienteninformation erhalten.

| | |
|---------------------------------------|-------|
| Vom Probanden persönlich auszufüllen: | |
| Datum | _____ |
| Unterschrift | _____ |

Vom aufklärenden Arzt auszufüllen, der das Informationsgespräch geführt hat:

Datum

Unterschrift

Beeinflusst Metamizol (Novalgin®) die Hemmung der Thrombozytenfunktion durch niedrigdosierte Acetylsalicylsäure (ASS)? Beobachtungsstudie an Patienten unter einer entsprechenden Schmerztherapie.

Checkliste für die Studienteilnehmer:

Zugewiesene Nummer

Name/Vorname

Patientenalter (≥ 18 Jahre)

_____ Jahre

Körpergewicht

_____ kg

Körpergröße

_____ cm

Kardiovaskuläre Vorerkrankung?

ASS-Dosis (75-150mg/d)

_____ mg/d

ASS-Dosis >150mg in den letzten 7 Tagen?

ja nein

Dauer der vorausgehenden ASS-Einnahme
(≥ 7 Tage)

_____ Tage/Monate

Metamizol-Dosis (10-20mg/kg KG 2-4x/d)

_____ mg _____ /d

Dauer der vorausgehenden Metamizol-Einnahme
(≥ 5 Tage)

_____ Tage/Monate

Einnahme von anderen NSAIDs?

ja nein

Therapie mit anderen Thrombozytenfunktionshemmern?

ja nein

Therapie mit Antikoagulanzen (Marcumar, Heparin)
in therapeutischer Dosierung?

ja nein

Vorbekannte Gerinnungs- oder Thrombozyten-
Funktionsstörung?

ja nein

7 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen Dank aussprechen, die mich auf diesem Weg begleitet haben oder ihn erst möglich gemacht haben.

Mein erster und großer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Thomas Hohlfeld dafür, dass er mich in seine Forschungsgruppe aufgenommen hat, mir dieses interessante Thema zur Verfügung gestellt hat, mich auf meinem langen und nicht immer geradlinigem Weg hin zur Dissertation mit Engagement, Vertrauen und Geduld begleitet hat, mir stets Gesprächs- und Diskussionspartner und Ansprechpartner bei Problemen war und mich so intensiv unterstützt hat. Ich hätte mir keinen besseren Doktorvater wünschen können.

Herrn PD Dr. Amin Polzin danke ich herzlich für die Übernahme des Korreferats.

Herrn Prof. Dr. Hubert Schelzig danke ich für die Mitwirkung in der Prüfungskommission.

Danken möchte ich auch dem Ärzteteam der Schmerzklinik, insbesondere Frau Dr. Andrea Schmitz für die nette Betreuung und Studienkoordination, Herrn PD Dr. Robert Werdehausen, Herrn Dr. Goran Pavlakovic und Frau Dr. Sandra Blenk, die mich bei der Rekrutierung von Patienten, Daten und der Entnahme von Blutproben so tatkräftig unterstützt haben.

Ein großer Dank geht auch an Kirsten Bartkowski, die mir nicht nur mit ihrer großen Erfahrung und labortechnischen Expertise zur Seite stand, sondern auch als Mensch so sehr ans Herz gewachsen ist. Frau Irmhild Rüter gilt mein Dank für die Durchführung des Radioimmunoassay.

Allen Studienteilnehmern, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre, möchte ich herzlich danken.

Ein ganz besonderer Dank gilt meinem Ehemann, ohne dessen Beharrlichkeit, Geduld und konsequenten Nachdruck ich diese Dissertation wohl nicht fertiggestellt hätte. Ich hätte an so vielen Punkten aufgegeben, wenn er nicht mein Fels in der Brandung und meine Ratio gewesen wäre. Und natürlich danke ich meinen Eltern, die mir durch ihre mentale und finanzielle Unterstützung mein Studium überhaupt erst ermöglicht haben. Danke auch an meine Oma, die so manche Träne getrocknet hat und die so lange hierauf warten musste.